

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



Síntese de Catinonas Psicoativas e Avaliação da sua Hepatotoxicidade

Catarina Cotovio de Oliveira

Mestrado em Química

Especialização em Química

Dissertação orientada por:
Professora Doutora Helena Gaspar
Professora Doutora Rita Pacheco

2017

Agradecimentos

Muito especialmente, desejo agradecer às minhas orientadoras Prof.^a Doutora Helena Gaspar e Prof.^a Doutora Rita Pacheco, pela disponibilidade, atenção dispensada, paciência, dedicação e profissionalismo..... Um Muito Obrigada.

À Professora Susana Santos por tudo o que ensinou e ajudou ao longo do ano no laboratório.

Aos meus colegas do laboratório, Maria João, Hichem Zaidi e Gabriel Satoto pelo acolhimento e boa disposição que foram essenciais à realização desta dissertação. À asma Ressaissi do grupo da Bioquímica pela ajuda e disponibilização durante os ensaios citotóxicos.

Aos meus amigos que dentro e fora da faculdade partilharam comigo esta experiência, Bruno Soares, Joana Araújo, Filipa Duarte Lopes e Raquel Ribeiro, obrigada por todos os momentos.

Ao Luís pela paciência e companheirismo, pelas noites e fins-de-semana que passou ao meu lado enquanto eu escrevia, pelo apoio e carinho que sempre me deu.

Aos meus pais e à Joana pelo apoio que sempre me deram, proporcionando-me esta hipótese, que por acreditarem em mim me permitiram a concretização de mais uma etapa.

Resumo

Este trabalho foi realizado no âmbito do protocolo entre a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e o Laboratório de Polícia Científica da Polícia Judiciária (LPC-PJ). Teve como objetivo a síntese de 12 catinonas psicoativas (*N,N*-dimetilcatinona (DMC), *N,N*-dimetilbufedrona (DMB), *N,N*-dietilpentedrona (DMP), *N,N*-4-metildimetcatinona (4-MDMC), anfepramona (AFP), *N,N*-dietilbufedrona (DEB), *N,N*-dietilpentedrona (DEP), 4'-metilfenilanfepramona (4-MAFP), *N*-etilcatinona (NEC), *N*-etilbufedrona (NEB), *N*-etilpentedrona (NEP), 4'-metil- α -pirrolidinpropiofenona (4-MPPP)) e a avaliação da sua hepatotoxicidade juntamente com a da 3,4-DMMC. Foi ainda efetuada a identificação de uma catinona sintética num produto apreendido em Portugal, a *N*-etilpentilona (Efilona). A catinona é um β -ceto análogo da anfetamina, um potente estimulante do sistema nervoso central, pelo que diversas catinonas têm surgido no mercado das drogas como substitutos legais das substâncias ilícitas. Estes são categorizados como catinonas sintéticas e enquadram-se na classificação de Novas Substâncias Psicoativas (NSP), definidas como novas substâncias psicotrópicas que não são controladas pela Convenção Única de Estupefacientes de 1961 nem pela Convenção de Substâncias Psicotrópicas de 1971. As catinonas sintéticas são o segundo maior grupo de substâncias psicoativas reportadas ao Observatório Europeu da Droga e Toxicodependência (EMCDDA, *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction*) e representam um perigo para a saúde pública, não só pelos seus riscos já reportados mas também devido à fácil acessibilidade ao público via internet. Tendo em conta que, o fígado é um dos órgãos alvo das anfetaminas e de já se ter conhecimento de casos de insuficiência hepática nos consumidores de catinonas psicoativas, revela-se importante compreender a relação destas substâncias com a toxicidade no fígado. Estes compostos são sintetizados em laboratórios ilegais, deste modo o conhecimento da sua síntese é importante para prever o aparecimento de novos compostos no mercados e a sua toxicidade.

Este trabalho descreve uma síntese de 2 passos para se obter 12 catinonas psicoativas e a sua caracterização por RMN, GC-MS e HR-MS-ESI. Após confirmação da pureza das catinonas foi avaliada a sua toxicidade contra a linha celular do fígado Hep G2. As células foram expostas aos compostos, durante 24 horas, com concentrações a variar entre 0,05 e 16 mM e a viabilidade celular pelo método do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio). Através das curvas dose-resposta obteve-se valores de EC₅₀, concentração entre o limite inferior e superior que induz 50 % de morte celular. As catinonas 4-MDMC (0,81 mM) e DMP (1,09 mM) foram as que revelaram maior toxicidade, enquanto que as catinonas DMC (7,83 mM) e AFP (6,62 mM) foram as menos tóxicas. Tomou-se como referência duas catinonas já designadas como drogas e proibidas, a mefedrona (1,28 mM) e a 4-MEC (1,51 mM). Finalmente, os resultados foram comparados com a hepatotoxicidade de 8 catinonas (metcatinona, bufedrona, pentedrona, α -PPP, α -PBP, α -PVP, mefedrona e 4-MEC) sintetizadas e testadas anteriormente. Deste modo, por comparação da toxicidade das 21 catinonas foi possível comprovar uma relação entre a sua toxicidade hepatocelular e a sua estrutura, mostrando que as catinonas com maior cadeia alquílica exibem maior toxicidade, bem como catinonas que contêm um grupo metilo no seu anel aromático.

Palavras-chave: Catinonas; Novas Substâncias Psicoativas; Hepatotoxicidade; HepG-2

Abstract

This work was carried out under the protocol between the Faculty of Sciences of the University of Lisbon and the Laboratory of Scientific Police of the Judicial Police (LPC-PJ). The main purpose of this work was to synthesize 12 psychoactive cathinones (dimethylcathinone, dimethylbuphedrone, diethylpentedrone, *N,N*-4-methyldimethcathinone, anfepramone, diethylbuphedrone, diethylpentedrone, 4'-methylphenilanfepramone, *N*-ethylcathinone, *N*-ethylbuphedrone, *N*-ethylpentedrone, 4'-methyl- α -pirrolidinopropiophenone) and evaluate their hepatotoxicity along with the 3,4-DMMC. A synthetic cathinone was also identified in a product seized in Portugal, *N*-ethylpentilone (Ephylone). Since cathinone, a β -keto analogue of amphetamine, is a potent central nervous system stimulant, several synthetic analogues have emerged in the market of recreational drugs as legal substitutes of illicit substances. Synthetic cathinones are classified as New Psychoactive Substances (NPS), which englob substances that are not controlled by the 1961 Single Convention on Narcotic Drugs or by the 1971 Convention on Psychotropic Substances. Synthetic cathinones are the second largest group of psychoactive substances reported do the European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) and they represent a public health issue, not only due to the already reported secondary effects, but also because of their easy availability to the public through the internet. Considerente that the liver is the main target for amphetamines, and that liver failure has already been reported in psychoactive cathinone users, it is important to understand the relationship of these substances to liver toxicity. This compounds are synthetized illegall laboratories, the knowledge of a simple synthetic route that resembles the one used in those labs became important to predict new compounds appearing into the market and their toxicity.

This work describes a two-step pathway to synthesize 12 psychoactive cathinones and their characterization by NMR, GC-MS and HR-MS-ESI. After confirming the purity of the cathinones, their toxicity was evaluated against the Hep G2 liver cell line. The cells were exposed to the compounds, for 24 hours, to concentrations between 0,05 and 16 mM and the cellular viability was evaluated through the MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. Through the dose-response curves the EC₅₀ values were determinated, concentration between the bottom and top limits that induces 50 % of cellular death. The toxicity was higher to cathinones 4-MDMC (0,81 mM) and DMP (1,09 mM), while to cathinones DMC (7,83 mM) and AFP (6,62 mM) the toxicity was the lowest. As reference two cathinones considered as prohibited drugs were chosen, mephedrone (1,28 mM) and 4-MEC (1,51 mM). Finally, the results were compared with the hepatotoxicity of 8 cathinones (methcathinone, buphedrone, pentedrone, α -PPP, α -PBP, α -PVP, mephedrone and 4-MEC) synthetized and tested before. Thus by comparision oh the toxicity of 21 cathinones it is possible to prove the relation between the hepatocellular toxicity of cathinones and their chemical structure, showing a toxicity enhancement with the increase of the alkyl chain length of the ketone moiety, as well as with the substitution of an Aromatic-H by a methyl group.

Keywords: Cathinones; New Psychoactive Substances; Hepatotoxicity; HepG-2

Índice

1	Introdução	3
1.1	Mercado Europeu de Droga	3
1.2	Novas Substâncias Psicoativas.....	3
1.3	Substâncias Naturais – <i>Catha Edulis</i>	5
1.4	Catinonas Sintéticas	6
1.4.1	Administração e Efeitos	8
1.4.2	Farmacologia.....	8
1.4.3	Citotoxicidade	10
2	Objetivo.....	15
3	Apresentação e Discussão de Resultados.....	19
3.1	Síntese das Catinonas	19
3.1.1	Formação das Bromocetonas.....	19
3.1.2	Formação das Catinonas.....	22
3.2	Ensaio de Hepatotoxicidade	45
3.2.1	Curvas Dose-Resposta.....	45
3.2.1.1	Efeito do Aumento da Cadeia	46
3.2.1.2	Efeito da Substituição no Anel Aromático.....	50
3.3	Identificação da <i>N</i> -etilpentilona numa amostra de um produto apreendido em Portugal 54	
4	Parte Experimental	58
4.1	Equipamento	58
4.2	Reagentes e Solventes	58
4.3	Sínteses.....	59
4.3.1	Síntese das α -Bromocetonas.....	59
4.3.1.1	Caracterização das Cetonas e Bromocetonas	60
4.3.2	Síntese das Catinonas	61
4.3.2.1	Caracterização das Catinonas Sintetizadas.....	63
4.3.3	Síntese de Ácido Clorídrico Etéreo (3M).....	66
4.4	Ensaio de Citotoxicidade	67
4.4.1	Cultura de Células	67
4.4.2	Contagem das Células	67
4.4.3	Determinação da Viabilidade Celular	67
4.4.3.1	Análise de Dados.....	68
5	Conclusão e Perspectivas Futuras	72
6	Referências Bibliográficas	76

7	Anexos.....	iii
---	-------------	-----

Índice de Figuras

Figura 1.1 - Estrutura da S-(+)- Anfetamina e da S-(-)-Catinona.	5
Figura 1.2 - Conversão da S-catinona em catina e norefedrina.....	6
Figura 1.3 - Estrutura genérica para derivativos da catinona.	6
Figura 1.4 - Estrutura das catinonas que surgiram entre 1930 e 1950.	7
Figura 1.5 - Relação estrutural da catinona/anfetamina, metcatinona/metanfetamina e metilona/MDMA	7
Figura 1.6 - Número de catinonas sintéticas notificadas à União Europeia pela 1ª vez, 2009-2016 ¹⁹	8
Figura 1.7 - Estrutura do Bupropion.	8
Figura 1.8 - Morfologia da linha celular do hepatoma humano Hep G2 (ATCC HB-8065) ⁴⁸	11
Figura 1.9 - Conversão do MTT em formazan ⁵³	12
Figura 1.10 – Exemplo de uma curva Dose-Resposta ⁵⁶	12
Figura 2.1 - Estrutura das catinonas estudadas no âmbito deste trabalho.	16
Figura 3.1 - Esquema reacional geral da formação das catinonas na forma de hidrocloreto.	19
Figura 3.2 - Mecanismo da formação das bromocetonas.	20
Figura 3.3 - Comparação dos espectros de RMN ¹ H (400MHz, CDCl ₃) da propiofenona e respetiva bromocetona.	20
Figura 3.4 - Comparação dos espectros de RMN ¹ H (400MHz, CDCl ₃) da 4'-metilpropiofenona e respetiva bromocetona.....	21
Figura 3.5 - Comparação dos espectros de RMN ¹ H (400MHz, CDCl ₃) da butirofenona e respetiva bromocetona.	21
Figura 3.6 - Comparação dos espectros de RMN ¹ H (400MHz, CDCl ₃) da valerofenona e respetiva bromocetona.	22
Figura 3.7 - Mecanismo de formação das catinonas.	23
Figura 3.8 - Comparação dos espectros de RMN ¹ H da Bromovalerofenona com a Dietilpentedrona (11), em CDCl ₃	24
Figura 3.9 - Correlações do COSY da catinona DEP (11) relativas ao anel aromático.	25
Figura 3.10 - Correlações de COSY da catinona DEP (11), relativas à cadeia alquílica da cetona.	27
Figura 3.11 - Correlações do COSY da catinona DEP (11), na parte do grupo etilamino.	29
Figura 3.12 - Correlações do HMBC para identificação dos carbonos quaternários.	29
Figura 3.13 - Estrutura numerada da <i>N,N</i> -dimetilcatinona (DMC) (5).	30
Figura 3.14 - Estrutura numerada da <i>N,N</i> -dimetilbufedrona(DMB) (6).	31
Figura 3.15 - Estrutura numerada da <i>N,N</i> -Dimetilpentedrona (DMP) (7)..	32
Figura 3.16 - Estrutura numerada da <i>N,N</i> -4-metildimetcatinona (4-MDMC) (8).	33
Figura 3.17 - Estrutura numerada da Anfepramona (AFP) (9).	34
Figura 3.18 - Estrutura numerada da <i>N,N</i> -dietilbufedrona (DEB) (10).....	35
Figura 3.19 - Estrutura numerada da <i>N,N</i> -dietilpentedrona (DEP) (11).....	36
Figura 3.20 - Estrutura numerada da <i>N,N</i> -4'-metilanfepramona (4-MAFP) (12).....	38
Figura 3.21 - Estrutura numerada da <i>N</i> -etilcatinona (NEC) (13).	39
Figura 3.22 - Estrutura numerada da <i>N</i> -etilbufedrona (NEB) (14).	40
Figura 3.23 - Estrutura numerada da <i>N</i> -etilpentedrona (NEP) (15).	41
Figura 3.24 - Estrutura numerada da 4'-metil- α -pirrolidinapropiofenona (MPPP) (16).	42
Figura 3.25 - Padrão geral de fragmentação de espectroscopia de massa das catinonas sintetizadas.	43
Figura 3.26 - Curvas-dose das células Hep G2 expostas aos compostos DMC (5), DMB (6) e DMP (7).	46

Figura 3.27 - Curvas-dose das células Hep G2 expostas aos compostos AFP (9), DEB (10) e DEP (11).	47
Figura 3.28 - Curva dose-resposta das células Hep G2 expostas aos compostos, NEC (13), NEB (14), NEP (15).	48
Figura 3.29 – Estudo do efeito do aumento da cadeia alquílica para as 5 famílias de catinonas estudadas.	49
Figura 3.30 - Comparação da curvas-dose das células expostas aos compostos AFP (9) e 4-MAFP (12).	50
Figura 3.31 - Comparação da curvas-dose das células expostas aos compostos DMC (5) e 4-MDMC (8).	50
Figura 3.32 - Gráfico do efeito da substituição no anel aromático para as 5 famílias de catinonas estudadas, das quais foram sintetizadas neste trabalho a DMC, 4-MDMC, NEC, AFP, 4-MAFP e MPPP, as restantes são retiradas da bibliografia ⁶¹ .	51
Figura 3.33 - Estrutura da 3,4-Dimetilmetcatinona (17).	51
Figura 3.34 - Comparação da curvas-dose das células expostas aos compostos Mefedrona, 3,4-DMMC, 4-MDMC (8), 4-MEC, 4-MAFP (12), MPPP (16).	52
Figura 3.35 - Gráfico do efeito da substituição no anel aromático para a família das catinonas com o grupo metilamino.	52
Figura 3.36 - Comparação dos espectros de RMN 1H da NEP (15) e da catinona apreendida. ...	54
Figura 3.37 - Identificação da estrutura da catinona apreendida, N-etilpentilona (18).	54
Figura 4.1 - Montagem para a síntese de ácido clorídrico etéreo.	66
Figura 4.2 - Exemplo da estrutura de uma microplaca preliminar, na qual se aplicaram os compostos NEC (13), NEB (14), NEP (15) e DEB (10).	67
Figura 4.3 - Exemplo de uma microplaca após dissolução do formazan com metanol.	68
Figura 4.4 - Equação para o cálculo da viabilidade celular.	68

Índice de Tabelas

Tabela 3.1 - Comparação dos dados de RMN ^1H das cetonas e bromocetonas sintetizadas, em CDCl_3 .	22
Tabela 3.2 - Rendimentos e quantidades obtidos das catinonas sintetizadas.	23
Tabela 3.3 - Comparação dos dados de RMN ^1H da zona aromática das bromocetonas e catinonas, em CDCl_3 .	25
Tabela 3.4 - Comparação dos dados de RMN ^1H da zona alquílica das bromocetonas e catinonas, em CDCl_3 .	26
Tabela 3.5 - Comparação dos dados de RMN ^1H dos grupo amino das catinonas, em CDCl_3 .	28
Tabela 3.6 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N,N</i> -dimetilcatinona, em CDCl_3 .	30
Tabela 3.7 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a <i>N,N</i> -dimetilcatinona, em CDCl_3 .	30
Tabela 3.8 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N,N</i> -dimetilbufedrona, em CDCl_3 .	31
Tabela 3.9 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a <i>N,N</i> -dimetilbufedrona, em CDCl_3 .	31
Tabela 3.10 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N,N</i> -dimetilpentedrona, em CDCl_3 .	32
Tabela 3.11 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a <i>N,N</i> -dimetilpentedrona, em CDCl_3 .	32
Tabela 3.12 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N,N</i> -4-metildimetcatinona, em CDCl_3 .	33
Tabela 3.13 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a <i>N,N</i> -4-metildimetcatinona, em CDCl_3 .	33
Tabela 3.14 - Dados de RMN ^1H e COSY para anfepramona, em CDCl_3 .	34
Tabela 3.15 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a anfepramona, em CDCl_3 .	34
Tabela 3.16 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N,N</i> -dietilbufedrona, em CDCl_3 .	35
Tabela 3.17 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a <i>N,N</i> -dietilbufedrona, em CDCl_3 .	35
Tabela 3.18 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N,N</i> -dietilpentedrona, em CDCl_3 .	36
Tabela 3.19 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a <i>N,N</i> -dietilpentedrona, em CDCl_3 .	37
Tabela 3.20 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N,N</i> -4'-metilanfepramona, em CDCl_3 .	38
Tabela 3.21 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a <i>N,N</i> -4'-metilanfepramona, em CDCl_3 .	38
Tabela 3.22 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N</i> -etilcatinona, em CDCl_3 .	39
Tabela 3.23 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para <i>N</i> -etilcatinona, em CDCl_3 .	39
Tabela 3.24 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N</i> -etilbufedrona, em CDCl_3 .	40
Tabela 3.25 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para <i>N</i> -etilbufedrona, em CDCl_3 .	40
Tabela 3.26 - Dados de RMN ^1H e COSY para <i>N</i> -etilpentedrona, em CDCl_3 .	41
Tabela 3.27 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para <i>N</i> -etilpentedrona, em CDCl_3 .	41
Tabela 3.28 - Dados de RMN ^1H e COSY para 4'-metil- α -pirrolidinapropiofenona, em CDCl_3 .	42
Tabela 3.29 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a 4'-metil- α -pirrolidinapropiofenona, em CDCl_3 .	42
Tabela 3.30 - Dados obtido por GC-MS para as catinonas.	44
Tabela 3.31 - Resultados de Alta Resolução para as catinonas sintetizadas.	44
Tabela 3.32 - Parâmetros da citotoxicidade das catinonas estudadas neste trabalho e o erro relativo associado ao desvio à média dos valores de EC_{50} .	45
Tabela 3.33 - Dados de RMN ^1H e COSY para a catinona apreendida, em DMSO.	55
Tabela 3.34 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a catinona apreendida, em DMSO.	55
Tabela 4.1 - Resumo das condições e quantidades de reagentes e de produto para as sínteses das bromocetonas.	59
Tabela 4.2 - Resumo das condições e quantidades de reagentes e de produto para as sínteses das doze catinonas.	62

Índice de Anexos

Anexo 7.1 - Espetro de RMN ^1H da Propiofenona.	iii
Anexo 7.2 - Espetro de RMN ^1H da 2-Bromopropiofenona (1).....	iii
Anexo 7.3 - Espetro de RMN ^1H da Butirofenona.	iv
Anexo 7.4 - Espetro de RMN ^1H da 2-Bromobutirofenona (2).	iv
Anexo 7.5 - Espetro de RMN ^1H da Valerofenona.	iv
Anexo 7.6 - Espetro de RMN ^1H da 2-Bromovalerofenona (3).	v
Anexo 7.7 - Espetro de RMN ^1H da 4'-metilpropiofenona.	v
Anexo 7.8 - Espetro de RMN ^1H da 4'-metil-2-bromopropiofenona (4).	v
Anexo 7.9 - Espetro de RMN ^1H da DMC (5).	vi
Anexo 7.10 - Espetro de COSY da DMC (5).	vi
Anexo 7.11 - Espetro de APT ^{13}C da DMC (5).	vi
Anexo 7.12 - Espetro de HSQC-edit da DMC (5).	vii
Anexo 7.13 - Espetro de HMBC da DMC (5).	vii
Anexo 7.14 - Espetro de RMN ^1H da DMB (6).	vii
Anexo 7.15 - Espetro de COSY da DMB (6).	viii
Anexo 7.16 - Espetro de APT ^{13}C da DMB (6).	viii
Anexo 7.17 - Espetro de HSQC-edit da DMB (6).	viii
Anexo 7.18 - Espetro de HMBC da DMB (6).	ix
Anexo 7.19 - Espetro de RMN ^1H da DMP (7).	ix
Anexo 7.20 - Espetro de COSY da DMP (7).	ix
Anexo 7.21 - Espetro de APT ^{13}C da DMP (7).	x
Anexo 7.22 - Espetro de HSQC-edit da DMP (7).	x
Anexo 7.23 - Espetro de HMBC da DMP (7).	x
Anexo 7.24 - Espetro de RMN ^1H da 4-MDMC (8).	xi
Anexo 7.25 - Espetro de COSY da 4-MDMC (8).	xi
Anexo 7.26 - Espetro de APT ^{13}C da 4-MDMC (8).	xi
Anexo 7.27 - Espetro de HSQC-edit da 4-MDMC (8).	xii
Anexo 7.28 - Espetro de HMBC da 4-MDMC (8).	xii
Anexo 7.29 - Espetro de RMN ^1H da AFP (9).	xii
Anexo 7.30 - Espetro de COSY da AFP (9).	xiii
Anexo 7.31 - Espetro de APT ^{13}C da AFP (9).	xiii
Anexo 7.32 - Espetro de HSQC-edit da AFP (9).	xiii
Anexo 7.33 - Espetro de RMN ^1H da DEB (10).	xiv
Anexo 7.34 - Espetro de COSY da DEB (10).	xiv
Anexo 7.35 - Espetro de APT ^{13}C da DEB (10).	xiv
Anexo 7.36 - Espetro de HSQC-edit da DEB (10).	xv
Anexo 7.37 - Espetro de HMBC da DEB (10).	xv
Anexo 7.38 - Espetro de RMN ^1H da DEP (11).	xv
Anexo 7.39 - Espetro de COSY da DEP (11).	xvi
Anexo 7.40 - Espetro de APT ^{13}C da DEP (11).	xvi
Anexo 7.41 - Espetro de HSQC-edit da DEP (11).	xvi
Anexo 7.42 - Espetro de HMBC da DEP (11).	xvii
Anexo 7.43 - Espetro de RMN ^1H da 4-MAFP (12).	xvii
Anexo 7.44 - Espetro de RMN ^1H da 4-MAFP (12).	xvii
Anexo 7.45 - Espetro de APT ^{13}C da 4-MAFP (12).	xviii
Anexo 7.46 - Espetro de HSQC-edit da 4-MAFP (12).	xviii
Anexo 7.47 - Espetro de HMBC da 4-MAFP (12).	xix

Anexo 7.48 - Espetro de RMN ^1H da NEC (13).	xix
Anexo 7.49 - Espetro de COSY da NEC (13).	xx
Anexo 7.50 - Espetro de APT ^{13}C da NEC (13).	xx
Anexo 7.51 - Espetro de HSQC-edit da NEC (13).	xxi
Anexo 7.52 - Espetro de HMBC da NEC (13).	xxi
Anexo 7.53 - Espetro de RMN ^1H da NEB (14).	xxii
Anexo 7.54 - Espetro de COSY da NEB (14).	xxii
Anexo 7.55 - Espetro de APT ^{13}C da NEB (14).	xxiii
Anexo 7.56 - Espetro de HSQC-edit da NEB (14).	xxiii
Anexo 7.57 - Espetro de HMBC da NEB (14).	xxiv
Anexo 7.58 - Espetro de RMN ^1H da NEP (15).	xxiv
Anexo 7.59 - Espetro de COSY da NEP (15).	xxv
Anexo 7.60 - Espetro de APT ^{13}C da NEP (15).	xxv
Anexo 7.61 - Espetro de HSQC-edit da NEP (15).	xxvi
Anexo 7.62 - Espetro de HMBC da NEP (15).	xxvi
Anexo 7.63 - Espetro de RMN ^1H da MPPP (16).	xxvii
Anexo 7.64 - Espetro de COSY da MPPP (16).	xxvii
Anexo 7.65 - Espetro de APT ^{13}C da MPPP (16).	xxviii
Anexo 7.66 - Espetro de HSQC-edit da MPPP (16).	xxviii
Anexo 7.67 - Espetro de HMBC da MPPP (16).	xxix
Anexo 7.68 - Espetro de RMN ^1H da catinona apreendida.	xxix
Anexo 7.69 - Espetro de COSY da catinona apreendida.	xxx
Anexo 7.70 - Espetro de APT ^{13}C da catinona apreendida.	xxx
Anexo 7.71 - Espetro de HSQC-edit da catinona apreendida.	xxxi
Anexo 7.72 - Espetro de HMBC da catinona apreendida.	xxxi
Anexo 7.73 - Cromatograma GC-MS da DMC (5).	xxxii
Anexo 7.74 - Espetro de massa da DMC (5).	xxxii
Anexo 7.75 - Cromatograma GC-MS da DMB (6).	xxxiii
Anexo 7.76 - Espetro de massa da DMB (6).	xxxiii
Anexo 7.77 - Cromatograma GC-MS da DMP (7).	xxxiv
Anexo 7.78 - Espetro de massa da DMP (7).	xxxiv
Anexo 7.79 - Cromatograma GC-MS da 4-MDMC (8).	xxxv
Anexo 7.80 - Espetro de massa da 4-MDMC (8).	xxxv
Anexo 7.81 - Cromatograma GC-MS da AFP (9).	xxxvi
Anexo 7.82 - Espetro de massa da AFP (9).	xxxvi
Anexo 7.83 - Cromatograma GC-MS da DEB (10).	xxxvii
Anexo 7.84 - Espetro de massa da DEB (10).	xxxvii
Anexo 7.85 - Cromatograma GC-MS da DEP (11).	xxxviii
Anexo 7.86 - Espetro de massa da DEP (11).	xxxviii
Anexo 7.87 - Cromatograma GC-MS da 4-MAFP (12).	xxxix
Anexo 7.88 - Espetro de massa da 4-MAFP (12).	xxxix
Anexo 7.89 - Cromatograma GC-MS da NEC (13).	xl
Anexo 7.90 - Espetro de massa da NEC (13).	xl
Anexo 7.91 - Cromatograma GC-MS da NEB (14).	xli
Anexo 7.92 - Espetro de massa da NEB (14).	xli
Anexo 7.93 - Cromatograma GC-MS da NEP (15).	xlii
Anexo 7.94 - Espetro de massa da NEP (15).	xlii
Anexo 7.95 - Cromatograma GC-MS da MPPP (16).	xlili

Anexo 7.96 - Espectro de massa da MPPP (16).....	xliii
---	-------

Lista de Abreviaturas e Símbolos

AFP	Anfepramona
APT	<i>Attached proton test</i>
BHE	Barreira hematoencefálica
TLC	Cromatografia em camada fina (do inglês <i>Thin layer chromatography</i>)
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
COSY	<i>Correlation spectroscopy</i>
CYP	Citocromo P450 (do inglês <i>Cytochrome P450</i>)
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DEB	Dietilbufedrona
DEP	Dietilpentedrona
DMB	Dimetilbufedrona
DMC	Dimetilcatinona ou metanfepramona
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
DMP	Dimetilpentedrona
EC ₅₀	Concentração que induz 50 % de morte celular ou 50 % de <i>viabilidade</i> celular (do inglês <i>Half maximal effective concentration</i>)
EMCDDA	Observatório Europeu da Droga e Toxicolodependência (do inglês <i>European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction</i>)
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (do inglês <i>Gas Chromatography- Mass Spectroscopy</i>)
HMBC	<i>Heteronuclear multiple bond coherence</i>
HSQC	<i>Heteronuclear single quantum coherence</i>
Hz	Hertz
J	Constante de acoplamento
m	Multipeto
MDA	3,4-Metilenodioxianfetamina
MDMA	3,4-Metilenodioximetanfetamina
MPP	4'-metil- α -pirrolidinpropiofenona
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NADH	Dinucleótido de nicotinamida e adenina (do inglês <i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>)
NEB	<i>N</i> -etilbufedrona
NEC	<i>N</i> -etilcatinona
NEP	<i>N</i> -etilpentedrona
NSP	Novas substâncias psicoativas
PBS	Solução tampão de fosfato (do inglês <i>Phosphate buffered solution</i>)
Pen/Strep	Penicilina/Estreptomicina
q	Quarteto
quin	Quinteto
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de próton
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13

s	Singuleto
sl	Singuleto alargado
SDS	Dodecil sulfato de sódio (do inglês <i>Sodium dodecyl sulfate</i>)
sext	Sexteto
FBS	Soro fetal bovino (do inglês Fetal bovine serum)
SNC	Sistema nervoso central
SN ₂	Substituição nucleofílica bimolecular
t	Tripleto
t _r	Tempo de retenção
THF	Tetrahidrofurano
UNODC	Gabinete das Nações Unidas contra a Droga e o Crime (do inglês <i>United Nations office on drugs and crime</i>)
α-PBP	α-Pirrolidinbutirofenona
α-PPP	α-Pirrolidinpropiofenona
α-PVP	α-Pirrolidinvalerofenona
δ	Desvio químico
δ _C	Desvio químico de carbono
δ _H	Desvio químico de protão
η	Rendimento
3,4-DMMC	3,4-Dimetilmetcatinona
4-MDMC	4-Metildimetcatinona
4-MAFP	4'-Metil-anfepramona
4-MEC	4-Metiletilcatinona
4-MMC	4-Metil-metcatinona ou mefedrona

1-INTRODUÇÃO

1 Introdução

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a definição mais comum para droga, refere-se a substâncias psicoativas e ilícitas, sem fins medicinais. Estas substâncias quando consumidas alteram os processos mentais, tendo impacto em zonas cerebrais responsáveis pela cognição e pelo afeto. Contudo, o termo psicoativo não implica que produza dependência, essa característica está associada ao consumo abusivo de substâncias ou de drogas¹. Estima-se que cerca de 247 milhões de pessoas consumiram drogas no ano de 2016, 29 milhões sofrem de problemas associados ao seu consumo, mas apenas uma em cada seis pessoas recorrem a tratamentos². Sabendo que 27 milhões dos consumidores têm problemas de dependência, torna-se visível a magnitude deste problema. Associados aos riscos dos consumidores estão também os perigos para a saúde pública³.

1.1 Mercado Europeu de Droga

A Europa, dada a sua localização geográfica, representa um pilar importante no mercado da droga baseado na sua produção e tráfico. O continente europeu é um ponto de entrada de drogas e de percursores, provenientes da América do Sul, oeste da Ásia e Norte de África, mas também funciona como ponto de passagem das rotas, de forma a chegar a outros continentes. Para além da importação, o continente europeu também é conhecido pela sua produção de drogas, em especial a Canábis estimando-se que 38 % da sua produção seja efectuada neste continente⁴. Os mercados de droga ilícitos são um sistema de produção e distribuição complexo e que gera transações monetária avultadas todos os anos. Estima-se que em 2013 o mercado das drogas tenha levado à transação de 24,3 mil milhões de euros na União Europeia⁴.

A nível nacional, a maioria das drogas que entram em Portugal provém de tráfico marítimo pois, dada a sua localização geográfica e à sua grande área costeira é a porta principal para a entrada de vários tipos de drogas ilícitas. Portugal serve também como um país de transição do comércio de drogas, como a Canábis e cocaína, provenientes de Marrocos e da América Latina para outros países da Europa. Por via terrestre ou aérea o influxo de drogas é menor sendo que as principais rotas, como a da heroína, tenham origem em Espanha e na Holanda⁵.

Com a evolução dos meios de comunicação e a sua associação a inovações tecnológicas, surgiu uma nova forma capaz de transcender a barreira da localização física, a internet. Esta via é atualmente o novo método de fornecimento de drogas e medicamentos contrafeitos. A chamada *darknet*, uma plataforma de vendas ilícita, tornou-se um mercado tecnológico que oferece privacidade aos seus utilizadores, sendo então aplicadas uma série de estratégias para ocultar as transações e as localizações dos servidores, sendo uma delas, por exemplo a ocultação do endereço do computador (*IP – Internet Protocol*), impedindo o rastreamento do negócio por entidades competentes. Um dos fatores principais que contribui para o crescimento destes mercados é a panóplia de substâncias psicotrópicas que se encontram disponíveis⁴. A acompanhar esta evolução da internet, que facilitou o acesso a substâncias psicotrópicas, apareceram novas substâncias, economicamente mais rentáveis e não detetáveis pelos métodos padrão de testes toxicológicos, atraindo antigos e criando novos consumidores. Estas novas substâncias, apareceram inicialmente, como alternativas legais às drogas clássicas.

1.2 Novas Substâncias Psicoativas

As substâncias psicoativas podem ser classificadas de acordo com a sua origem: naturais, semissintéticas, sintéticas e *designer drugs*⁶. As drogas naturais são obtidas a partir de produtos naturais com ingredientes ativos que podem ser isolados por extração, como é o caso da morfina e da cocaína. Quando os produtos provenientes de plantas são submetidos a algum tipo de processo químico com intuito de modificar a sua estrutura, como acontece com a heroína, são

chamados de drogas semissintéticas. As drogas sintéticas são substâncias químicas sintetizadas com um objetivo comercial como é o caso da anfetamina. As *designers drugs* são substâncias com origem natural ou sintética, que sofrem alterações a nível estrutural, por um lado com o intuito de otimizar os seus efeitos, por outro para escaparem às leis do controlo de substâncias⁶.

Equiparadas às drogas tradicionais como a cocaína, heroína, anfetamina, metanfetamina e *ecstasy*, apareceram outras substâncias nos mercados que pretendem produzir efeitos semelhantes aos dessas drogas. Estas novas substâncias são consideradas alternativas legais, por não estarem englobadas no controlo internacional de drogas³. O controlo internacional de drogas refere-se a substâncias psicoativas e seus precursores cuja distribuição é proibida por lei, ou restrita a usos médicos e farmacêuticos¹. O aparecimento destas novas substâncias no mercado criou a necessidade de adopção de um novo termo que as caracteriza, adoptando-se o termo novas substâncias psicoativas (NSP). As NSP são definidas como todas as substâncias de abuso, seja na forma pura ou de preparação, que não são controladas pela Convenção Única de Estupefacientes de 1961 nem pela Convenção de Substâncias Psicotrópicas de 1971, que possam apresentar um perigo para a saúde pública⁷. Apesar do termo ‘novas substâncias’, o mesmo não se refere à sua recente síntese, pois diversas NSP foram sintetizadas a partir dos anos 20, estando este termo associado à introdução das mesmas no mercado (ou à comercialização das mesmas em grande escala). As NSP englobam diversas categorias de substâncias, como as catinonas sintéticas⁷.

Ao nível da legislação em Portugal, as drogas são controladas pelo Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro, mas dado o aparecimento de novos análogos no mercado a um ritmo que ultrapassa os meios previstos, houve necessidade de criar uma nova legislação e para tal, foi formulado o Decreto-Lei n.º 54/2013, de 17 de abril. Este procede à definição do regime jurídico da prevenção e proteção contra a publicidade e comércio das novas substâncias psicoativas, proibindo a produção, importação, exportação, publicidade, distribuição, venda, detenção ou disponibilização de NSP. Este decreto-lei considera novas substâncias psicoativas, as substâncias não especificamente enquadradas e controladas ao abrigo da legislação própria que, em estado puro ou numa preparação, podem constituir uma ameaça para a saúde pública comparável à das substâncias previstas naquela legislação, com perigo para a vida, ou para a saúde e integridade física, devido aos efeitos no sistema nervoso central, podendo induzir alterações significativas a nível da função motora, bem como das funções mentais, designadamente do raciocínio, juízo crítico e comportamento, muitas vezes com estados de delírio, alucinações ou extrema euforia, podendo causar dependência e, em certos casos, produzir danos duradouros ou mesmo permanentes sobre a saúde dos consumidores⁸. De acordo com o artigo 3º são também consideradas como NSP todos os derivados, isómeros, sais e preparados das substâncias listadas na Portaria n.º 154/2013, de 17 de abril.

No mercado, as NSP são conhecidas como *legal highs*, *herbal highs*, *bath salts* e *research chemicals*. Estas substâncias são constantemente sujeitas a diversas modificações estruturais para se ir contornando a legislação e são vendidas sob a forma de nomes atrativos para aliciar o consumidor, apesar das embalagens referirem que não são para consumo humano, mas sim para serem usadas como incenso ou fertilizante. De forma a escapar às leis, a produção destas substâncias é efetuada de forma discreta em laboratórios ilegais, sendo depois vendidas através da *internet*. Para monitorizar este mercado o Observatório Europeu da Droga e da Toxicodependência (EMCDDA) coleta e mantém uma base de dados que cobre o padrão de uso de drogas e NSP na Europa. Este tipo de base de dados fornece uma perspetiva em relação à prevalência no consumo das drogas recreacionais, sendo complementados por uma análise ao nível europeu dos resíduos de drogas presentes nas águas residuais de cada comunidade⁴.

1.3 Substâncias Naturais – *Catha Edulis*

Ao longo dos anos, tem sido muito frequente, a extração de componentes presentes em plantas com o objetivo de isolar os seus compostos psicotrópicos. As drogas mais comuns, como a cocaína e o haxixe têm origem em produtos naturais de plantas como a Coca e a Canábis, respetivamente. Para além destas drogas, existe um abuso de outras substâncias provenientes de plantas com efeitos psicoativos cujo o seu consumo tem vindo a aumentar.

A planta Khat (*Catha edulis*), nativa da zona leste da África e da Península Arábica, é conhecida pelas suas propriedades terapêuticas e recreacionais. O seu consumo excessivo, por parte de 10 milhões de pessoas na sua zona de origem e em ascensão, devido à exportação desta planta e pela imigração, despertou o interesse da Organização Mundial de Saúde (OMS), que em 1980 classificou esta planta como uma droga de abuso, capaz de causar dependência^{6,9}.

O modo mais comum de administração consiste na mastigação de folhas, sendo que uma sessão dura entre 3 a 4 horas, ingerindo-se cerca de 100 g a 300 g de Khat. Este ritual faz parte de uma tradição cultural e social, na qual 75 % do seu consumo é realizada pelo sexo masculino^{10,11}. Durante este processo a maioria dos alcaloides são extraídos pela saliva e apenas 10 % do conteúdo original mantém-se na folha. Dada que a dissolução dos compostos na saliva permite a absorção a nível da mucosa bucal, a mucosa bucal tem um papel principal na absorção dos alcaloides¹².

O consumo exacerbado desta planta suscitou investigações patrocinadas pela OMS, que fomentaram diversos estudos científicos em relação à farmacologia da planta Khat^{10,13,14}. Foi demonstrado que as folhas contêm diversos alcaloides, dos quais três são do tipo fenilpropilamina. O principal composto psicoativo é a catinona, *S*-(-)- α -aminopropiofenona, cuja estrutura apresenta semelhanças com a da anfetamina (Figura 1.1), mas o efeito deste alcalóide no consumidor é sentido mais rapidamente do que o que acontece com a anfetamina, mas com metade da potência^{7,11}. Na planta, o conteúdo em catinona depende das condições de cultivo, podendo este alcaloide constituir até 70 % do total de alcaloides, o que também afeta o preço da Khat no mercado¹⁵.

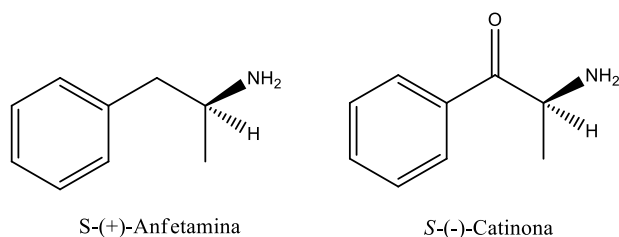


Figura 1.1 - Estrutura da *S*-(+)- Anfetamina e da *S*-(-)-Catinona.

Para além da catinona, foram encontradas mais duas substâncias psicoativas, a catina, *S,S*-(+)-norpseudoefedrina, e a norfedrina, *R,S*-(-)-norfedrina, ambas com menor efeito. A catina ocorre maioritariamente em folhas antigas e resulta da redução da catinona durante processos de seca e armazenamento, enquanto que a norefedrina ocorre maioritariamente por modificação da catinona pelo metabolismo humano (Figura 1.2)¹⁵.

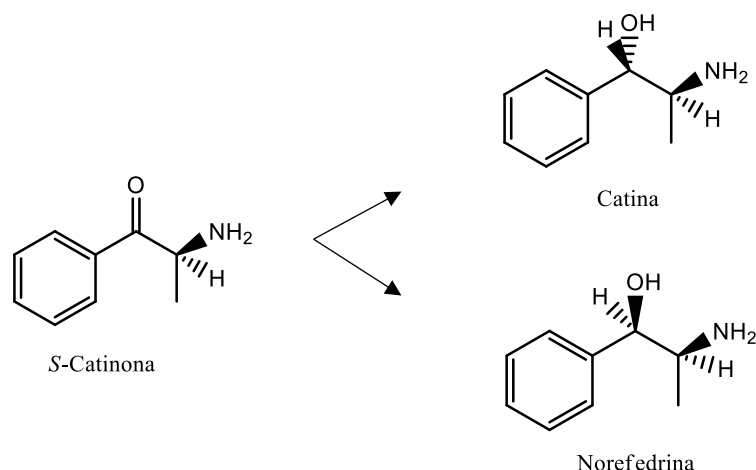


Figura 1.2 - Conversão da S-catinona em catina e norefedrina.

Ambas as substâncias, catinona e catina, são drogas controladas devido ao abuso de Khat.

1.4 Catinonas Sintéticas

As catinonas sintéticas são *designer drug*, que podem ser consideradas análogos da catinona. A catinona além de ser extraída das folhas frescas da Khat, pode também ser sintetizada a partir da α -bromopropiofenona que é obtida a partir da propiofenona, podendo ser considerada um protótipo da família das β -ceto fenilalquilaminas (Figura 1.3), categorizadas dentro das NSP como catinonas sintéticas⁶.

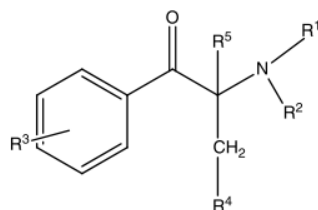


Figura 1.3 - Estrutura genérica para derivados da catinona.

Apesar das catinonas serem consideradas NSP e de terem surgido no mercado das drogas em meados de 2000, algumas destas substâncias foram sintetizadas durante a descoberta da catinona na planta Khat, que se iniciou em 1930 mas só foi concluída em 1975. Esta demora na investigação deveu-se maioritariamente à degradação enzimática da catinona após a colheita das folhas^{16,17}. Durante esse tempo muitas catinonas foram utilizadas como medicamentos. Por exemplo, a metcatinona (Figura 1.4) também conhecida por efedrona, foi a primeira catinona a ser sintetizada em 1928, como um intermediário da efedrina, e foi colocada no mercado entre 1930 e 1940 como um antidepressivo. Pouco depois, em 1929 foi sintetizada a 4-metil-metcatinona (4-MMC) (Figura 1.4), usualmente conhecida como mefedrona, tendo sido considerada já na altura como uma ‘substância obscura’¹⁸. Em 1950 outra catinona surge no mercado, a anfepramona (Figura 1.4), como supressor de apetite e o mesmo aconteceu posteriormente com a metanfepramona (4-metildimetcatinona) (Figura 1.4)¹⁸.

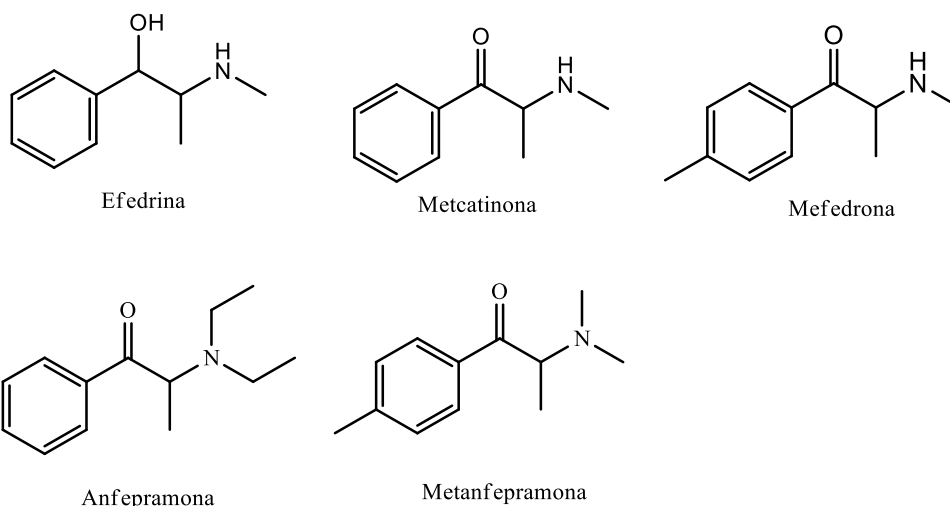


Figura 1.4 - Estrutura das catinonas que surgiram entre 1930 e 1950.

Por volta de 2005 surgiu a metilona, um análogo de MDMA (Figura 1.5), que foi a primeira catinona sintética a ser reportada ao EMCDDA e em 2007 volta a aparecer no mercado a mefedrona¹⁶.

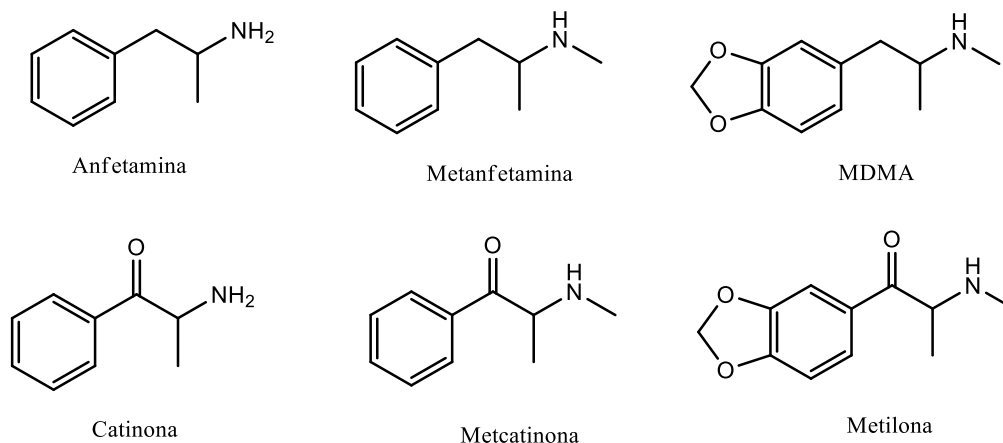


Figura 1.5 - Relação estrutural da catinona/anfetamina, metcatinona/metanfetamina e metilona/MDMA .

Desde a primeira catinona sintética reportada foram identificadas 118 novas substâncias deste tipo (Figura 1.6)¹⁹. Apesar das catinonas sintéticas serem conhecidas como análogas das anfetaminas, a catinona, a metcatinona e a metilona são estruturalmente semelhantes e relacionáveis à anfetamina, metanfetamina e MDMA, respetivamente, mas pouco se sabe acerca do seu mecanismo de ação²⁰. Em 2010, a mefedrona e a metilona foram identificadas como as catinonas sintéticas de uso mais comum¹⁶ e entre 2014 e 2015 foram identificadas 57 novas catinonas sintéticas, o correspondente a 48 % do total de catinonas que apareceram em 15 anos. Em resposta aos desenvolvimentos das *designer drugs*, algumas das regulamentações atuais englobam novos e possíveis análogos de substâncias psicoativas já existentes¹. As catinonas são o segundo maior grupo de substâncias controladas pelo EMCDDA².

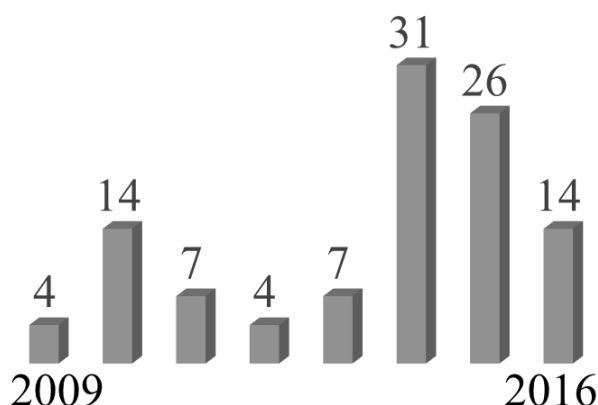
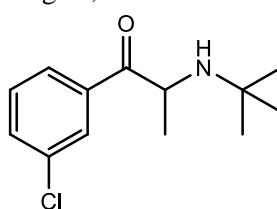


Figura 1.6 - Número de catinonas sintéticas notificadas à União Europeia pela 1ª vez, 2009-2016 ¹⁹.

Atualmente apenas o bupropion (Figura 1.7) é a única catinona comercializada como antidepressivo e no auxílio à cessação tabágica, tendo sido introduzido no mercado em 1980 ^{6,17}.



Bupropion

Figura 1.7 - Estrutura do Bupropion.

1.4.1 Administração e Efeitos

O consumo das catinonas é usualmente efetuado por inalação. Uma dose individual pode variar entre 50 a 250 mg, dependendo da frequência de consumo, do consumidor e do tipo de catinona²¹. Os consumidores de catinonas sintéticas costumam comparar os seus efeitos aos produzidos pela cocaína, anfetamina e MDMA. Estas substâncias provocam euforia, excesso de energia, tremores, taquicardia, insônia, distorção do tempo e por vezes um efeito alucinógeno^{17,22}. Em casos de consumo mais extremos foram necessários cuidados médicos, tendo sido reportados sintomas como alteração do ritmo cardíacos, distúrbios psiquiátricos e neurológicos. Intoxicações por NSP não são facilmente reconhecidas e os efeitos imprevisíveis tornam-nas um perigo para a saúde pública, especialmente quando combinadas com outras substâncias^{23,24}. Tendo em conta que diversos casos clínicos de intoxicação com este tipo de substâncias têm vindo a ser reportados e que em alguns casos o consumo de catinonas sintéticas tiveram consequências fatais, o estudo ao nível da sua toxicidade e efeitos farmacológicos revela-se de extrema importância^{23,25,26}.

1.4.2 Farmacologia

Novas catinonas sintéticas continuam a aparecer no mercado mas há muito pouco conhecimento da sua farmacologia ou toxicidade. A farmacologia procura descrever a ação de um composto a partir do momento que entra no organismo vivo, conhecendo a sua absorção, distribuição, metabolização e excreção. A classificação de determinada substância baseada no seu mecanismo de ação simplifica o estudo farmacológico, pois o mecanismo está ligado ao nível de atuação da substância no organismo²⁷, facilitando a compreensão dos efeitos terapêuticos e adversos de diversas substâncias.

Os efeitos farmacológicos mais pronunciados das catinonas, são conhecidos e ocorrem no sistema nervoso central (SNC) envolvendo sintomas como tonturas, paranoia ou convulsões²⁸. Sabe-se ainda que as catinonas funcionam como estimulantes no SNC de forma idêntica ao consumo de cocaína²⁹. Em relação ao mecanismo de ação neuroquímico destas *designer drugs*, estudos relacionam a interferência destes compostos nos transportadores de monoamina (MATs do inglês *monoamine transporters*) tal como acontece nas drogas ou nos medicamentos antidepressivos. As MATs são proteínas presentes na membrana plasmática e têm como função o transporte de neurotransmissores do tipo aminas biogénicas (contêm um grupo amina ligado ao anel aromático). As aminas biogénicas representam três grandes classes de neurotransmissores, como a dopamina (DA), norepinefrina (NE) e serotonina (5-HT), sendo estas transportadas pelos respetivos receptores/transportadores de dopamina (DAT), norepinefrina (NET) e de serotonina (SET), respetivamente. Através de estudos farmacológicos anteriores³⁰ é possível conhecer o mecanismo de ação das catinonas sintéticas permitindo obter informações rápidas e de confiança em relação à toxicidade de NSPs. As catinonas são classificadas de acordo com os receptores de monoamina aos quais se ligam³⁰.

Por outro lado sendo algumas catinonas moléculas hidrofóbicas podem facilmente atravessar a membrana plasmática e outras barreiras incluindo a barreira hematoencefálica (BHE). Esta é uma membrana semipermeável altamente seletiva, que protege o SNC de substâncias neurotóxicas presentes no sangue^{27,31}. Esta dificuldade em ultrapassar a BHE reflete-se na diminuição da potência das catinonas sintéticas quando comparadas com os seus análogos, as anfetaminas, motivo pelo qual as doses de consumo são superiores nas catinonas sintéticas³². No entanto pequenas alterações na sua estrutura podem mudar substancialmente o perfil farmacológico, nomeadamente a sua potência, o seu receptor alvo²⁷. Por exemplo, geralmente a presença de um grupo β -ceto, em comparação com os análogos do tipo das anfetaminas, aumenta a polaridade das catinonas sintéticas, tornando-as menos lipofílicas, o que vai dificultar a passagem dos compostos nas membranas de bicamada lipídicas e na BHE^{24,30}. No caso de catinonas com grupo pirrolidiloo a polaridade diminui permitindo a passagem destas substâncias pela BHE mais facilmente, o que aumenta o efeito das mesmas no SNC³³. Outra estratégia usada para diminuir a polaridade é aumentar a cadeia carbonada, o que diminui a polaridade e permite a passagem mais eficaz pela BHE^{22,34-36}.

A metabolização ou biotransformação é outra componente importante na farmacologia, na qual se identifica o processo bioquímico que altera as substâncias ingeridas. O corpo humano está exposto a diversas substâncias externas, que não se encontram naturalmente no corpo, denominadas xenobióticos²⁷. O fígado é o órgão mais importante no metabolismo de xenobióticos, sendo muitas vezes o alvo de toxicidade por parte desses compostos, pois metaboliza as substâncias ingeridas e absorvidas pelo sistema gastrointestinal, antes destas chegarem à circulação sistémica atingindo os seus órgãos alvo. Quando um xenobiótico é absorvido e sofre metabolização, ocorrem alterações estruturais, modificações bioquímicas ou degradação, para que o organismo o elimine facilmente. Esta metabolização ocorre maioritariamente no fígado por ação de enzimas em duas fases (fase I e II) e que têm como objetivo reduzir o tempo de vida biológica do xenobiótico, assim como a duração da exposição do organismo ao mesmo, evitando a sua acumulação e facilitando a eliminação por via renal ou biliar³⁷. Os citocromos (CYP) presentes no fígado estão envolvidos nos processos de biotransformação de xenobióticos, nomeadamente os citocromos P450. Este tipo de citocromos constituem a maior família de enzimas, organizada em 18 famílias, das quais os CYP1, CYP2 e CYP3 são os principais citocromos responsáveis no processo da metabolização de drogas, em especial na fase I³⁸. Recentes estudos referem especificamente o CYP2D6 como sendo maioritariamente responsável nos processos de biotransformação de catinonas sintéticas, no

entanto os metabólitos produzidos podem, por vezes, ser mais tóxicos que a respetiva catinona^{29,39-42}. O metabolismo da droga pode resultar em intoxicação ou desintoxicação - a ativação ou desativação do composto químico⁴³. Lesões no fígado causadas pelo consumo abusivo de drogas é um diagnóstico frequente em pacientes com dano hepático agudo. Este tipo de lesões depende do agente químico envolvido e do período de exposição³⁷.

1.4.3 Citotoxicidade

Os mecanismos associados à toxicidade das NSP que surgem no mercado ainda se encontram pouco elucidados. Devido às consequências reportadas da utilização destas substâncias surge a necessidade de investigar os seus efeitos quer agudos ou crónicos em humanos e animais. A avaliação da toxicidade induzida por compostos foi tradicionalmente baseada em testes *in vivo*, no entanto tem vindo a ser substituída por modelos humanos *in vitro* devido à necessidade de redução de testes em animais e diferenças específicas de espécies, mas principalmente porque se demonstrou rápida e fiável. Os ensaios de toxicidade ao nível celular fornecem uma metodologia rápida e eficiente de medir a morte celular devido ao efeito citotóxico de um composto em estudo. Estes estudos são essenciais para avaliar a toxicidade de um composto quando este se destina à utilização humana, por exemplo, quando surgem novos compostos farmacêuticos, os seus efeitos citotóxicos têm de ser avaliados antes de serem colocados no mercado. O mesmo acontece com as drogas e as NSPs, é importante conhecer os efeitos citotóxicos destes compostos que são disponibilizados sob diversas formas e sem conhecimento da sua pureza, ou o verdadeiro conteúdo do que é comercializado.

De acordo com o modo de ação do composto escolhe-se o modelo de citotoxicidade mais adequado. No caso das catinonas sintéticas foram adoptados diferentes tipos de modelos celulares como células endoteliais aórticas, neuronais, gastrointestinais, hepáticas, renais e pulmonares que permitem estudar os efeitos das NSP nestes órgãos⁴⁴. Sendo, a hepatotoxicidade a principal causa de preocupação do uso continuado e excessivo de drogas há um grande interesse em entender o potencial de uma droga poder causar danos ao fígado. Para além disso, em caso de acidente, um elemento importante durante o processamento de um diagnóstico é a identificação do composto ingerido e a sua hepatotoxicidade e apesar da diversidade de moléculas a aparecer no mercado, as informações relativas à hepatotoxicidade das NSP são escassas.

Os hepatócitos humanos primários são o alvo preferencial dos estudos de hepatotoxicidade, mas a sua disponibilidade limitada, o alto custo, a variabilidade do doador para o doador e outras preocupações limitam sua aplicação numa escala mais ampla⁴⁵. Além dos hepatócitos humanos, as células Hep G2 são uma das linhas de células do fígado humano que têm sido descritas como apresentando potencial de uso em estudos de citotoxicidade⁴⁶. É uma característica essencial os modelos *in vitro* retratarem o sistema vivo. Ambos os modelos têm as suas vantagens e limitações, no caso dos hepatócitos primários, estes permitem identificar os compostos que são potencialmente tóxicos, como a atividade de CYP é elevada, o que permite servir de modelo para a metabolização dos xenobióticos mas, como desvantagem estes hepatócitos não proliferam, perdendo a sua atividade metabólica em poucas semanas. Enquanto que a linha celular Hep G2 (Figura 1.8) trata-se de uma linha celular imortal de fácil manuseamento e fornece um sistema humano reprodutível, pois mantém as funções hepáticas e a atividade de alguns CYP⁴⁷.

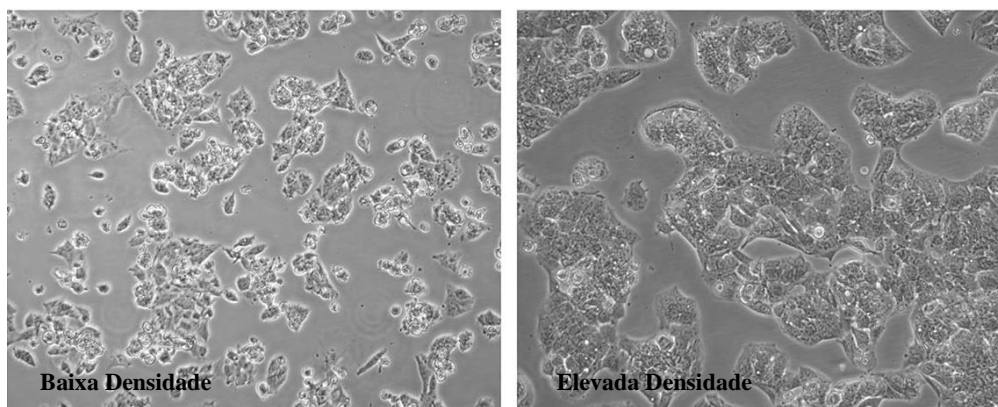


Figura 1.8 - Morfologia da linha celular do hepatoma humana Hep G2 (ATCC HB-8065)⁴⁸.

Após a escolha do modelo celular é necessário ter em conta o estudo de viabilidade celular, estes baseiam-se na avaliação de diferentes funções celulares, como por exemplo a atividade de enzimas, a permeabilidade da membrana celular, a aderência celular, a produção de ATP ou de co-enzimas⁴⁹. Especificamente, os ensaios à base de sais de tetrazólio, têm sido amplamente aplicados como métodos de deteção da viabilidade celular. São métodos colorimétricos que têm por base a redução metabólica sendo os mais comuns o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfonil)-2-tetrazólio (MTS) e de 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfonil)-2-tetrazólio-5-carboxanilida (XTT)⁵⁰. A sensibilidade das células a diferentes compostos é avaliada neste tipo de ensaios por contacto dos compostos com as células e depende de diversos fatores, tais como o tempo de exposição das células aos compostos ou os mecanismos que levam à morte celular. Por estes motivos é essencial ter em conta o efeito esperado, ou prever o tipo de mecanismo de morte células, para a escolha mais acertada do tipo de ensaio a aplicar⁵¹.

O MTT é um método ideal para verificação da viabilidade celular e dos mais utilizados em testes preliminares de efeito de drogas, tendo sido o primeiro estudo homogéneo desenvolvido deste tipo numa microplaca de 96 poços. É um método colorimétrico, que consiste na redução do MTT de cor amarela, por clivagem do anel tetrazolol através da ação das células com metabolismo ativo na presença de NADH e NADPH, em (E,Z)-5-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-1,3-difenilformazan, vulgarmente conhecido como formazan, um sal com tom de roxo (Figura 1.9)⁵². O formazan produzido acumula-se, como um precipitado insolúvel, no interior das células, assim como perto da superfície das mesmas e no meio de cultura. A quantidade de formazan está relacionada com a atividade de enzimas como redutases celulares, o que por sua vez está relacionada com o número de células viáveis^{39,53-55}. Após a formação de formazan, este tem de ser dissolvido, normalmente em DMSO ou metanol, sendo depois quantificado por espectrofotometria. A intensidade da cor obtida por registo da absorvância a 595 nm é directamente proporcional à actividade metabólica das células e como tal à viabilidade celular e inversamente proporcional à toxicidade dos compostos testados. Quando ocorre morte celular, as células perdem a capacidade de reduzir o MTT devido à diminuição da atividade das redutases celulares diminuindo portanto o formazan formado. São diversos os parâmetros que afetam este método, tais como a concentração de MTT, tempo de incubação, número de células/poço e a sua atividade metabólica, desta forma o protocolo do método aplicado deverá ser ajustado às condições reacionais⁵³.

2- OBJETIVO

2 Objetivo

Este trabalho foi realizado no âmbito do protocolo entre a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e o Laboratório de Polícia Científica da Polícia Judiciária (LPC-PJ). Teve como objetivo a síntese e avaliação da hepatotoxicidade de catinonas psicoativas, e a identificação de uma catinona sintética num produto apreendido em Portugal.

As catinonas sintéticas foram inicialmente desenvolvidas como novos compostos químicos para fins de investigação, pelo que não existe nenhuma pesquisa sistemática sobre a sua toxicidade^{59,60}. Devido ao uso destes compostos como drogas recreativas e aos perigos que representam para a saúde pública, testes biológicos de citotoxicidade são importantes para compreender o potencial citotóxico das catinonas. Este facto levou ao principal objetivo deste trabalho, a avaliação da hepatotoxicidade de catinonas psicoativas (apresentado na secção 3.2). Nestes estudos biológicos foram usadas culturas da linha celular de carcinoma do fígado Hep G2 como modelo celular *in vitro*, permitindo considerar compostos potencialmente hepatotóxicos.

Este trabalho surgiu no seguimento de um projecto anterior, no qual foi efetuada a síntese e avaliação toxicológica de 8 catinonas psicoativas (α -PPP, α -PBP, α -PVP, mefedrona, metcatinona, bufedrona, pentedrona e 4-metiletcatinona)⁶¹. Deste modo, pretendeu-se neste trabalho acrescentar mais 13 catinonas (*N,N*-Dimetilcatinona (DMC), *N,N*-Dimetilbufedrona (DMB), *N,N*-Dimetilpentedrona (DMP), *N,N*-4-metildimetcatinona (4-MDMC), Anfepramona (AFP), *N,N*-Dietilbufedrona (DEB), *N,N*-Dietilpentedrona (DEP), *N,N*-4'-Metilanfepramona (4-MAFP), *N*-Etilcatinona (NEC), *N*-Etilbufedrona (NEB), *N*-Etilpentedrona (NEP), 4'-Metil- α -pirrolidinpropiofenona (4-MPPP), 3,4-Dimetilmetcatinona (3,4-DMMC)) ao estudo inicial por forma a obter o conjunto final de 21 catinonas (Figura 2.1) que podem ser agrupadas em 5 famílias de acordo com o grupo amino na sua estrutura (metilamino, etilamino, pirrolidilo, dimetilamino e dietilamino), e assim fazer-se uma correlação entre a estrutura da catinona e a seu potencial hepatotóxico.

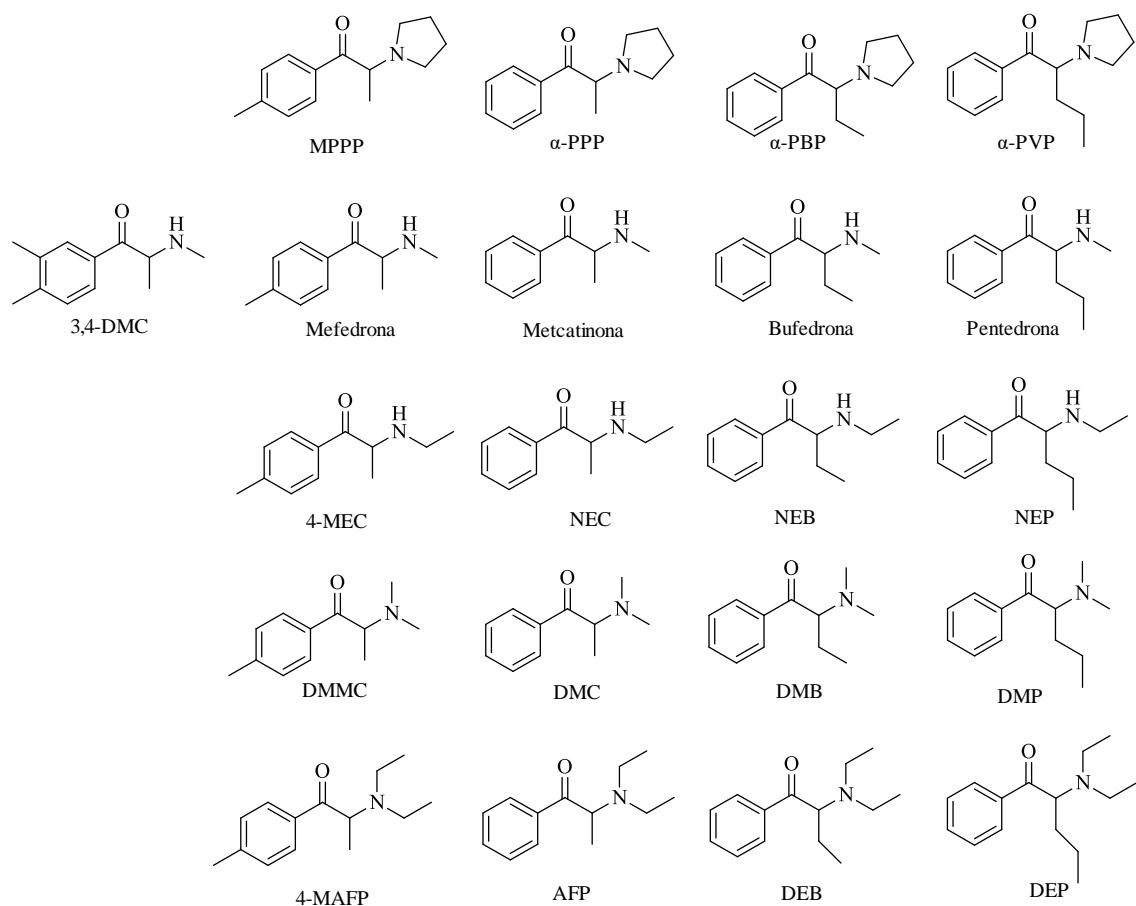


Figura 2.1 - Estrutura das catinonas estudadas no âmbito deste trabalho.

É de salientar, que no presente trabalho, foram incluídas não só catinonas já reportadas como NSP ao EMCDDA, mas também de 4 novas catinonas, *N,N*-dietilbufedrona (DEB), *N,N*-dietilpentedrona (DEP), *N,N*-dimetilbufedrona (DMB) e *N,N*-dimetilpentedrona (DMP), uma vez que é expectável que estas substâncias venham a aparecer no mercado das drogas.

Devido a falta de informação analítica referente às catinonas sintéticas é importante a criação de uma base de dados de ressonância magnética nuclear (RMN) e de cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massa (GC-MS) dos compostos sintetizados, para que se possa fazer uma correta monitorização destas substâncias. Deste modo, este trabalho teve também como objectivo o fornecimento de padrões de catinonas sintéticas ao LPC-PJ. Apesar de existirem à venda padrões de algumas catinonas sintéticas, os processos legais e custos para a sua obtenção impedem a rápida identificação das substâncias, através de uma base de dados própria este processo é facilitado. O método primeiramente aplicado na identificação de catinonas sintéticas é o GC-MS, mas esta técnica é muitas vezes inconclusiva quando não existem padrões, pelo que o RMN é essencial na descoberta de novas substâncias, permitindo a sua rápida e inequívoca identificação. Este facto verificou-se quando no decorrer deste trabalho foi apreendida uma nova catinona em Portugal e cuja identificação apenas foi possível por RMN. A sua identificação e caracterização foi também um dos objetivos deste trabalho (apresentada na secção 3.3).

3-APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

3 Apresentação e Discussão de Resultados

No presente trabalho foi avaliada a hepatotoxicidade de 13 catinonas psicoativas, DMC, DMB, DMP, 4-MDMC, AFP, DEB, DEP, 4-MAFP, NEC, NEB, NEP, 4-MPPP, 3,4-DMMC (Figura 2.1).

Para se ter quantidades suficientes das catinonas para fornecer ao LPC-PJ e fazer os testes biológicos foram sintetizadas, a partir das respectivas bromocetonas, todas as catinonas excepto a 3,4-DMMC. Não foi necessário sintetizar esta substância, uma vez que nos foi fornecido pelo LPC um produto puro proveniente de uma smarshop. As catinonas sintetizadas foram purificadas e posteriormente caracterizadas por ressonância magnética nuclear (RMN), cromatografia gasosa acoplada a espetrometria de massa (GC-MS) e espetrometria de massa de alta resolução (HR-MS). A síntese e caracterização destas catinonas é apresentado e discutido na secção 3.1. Os ensaios de citotoxicidade foram realizados nas 13 catinonas psicoativas e caracterizados após 24 horas em contacto com as células da linha celular do carcinoma humano Hep G2. Os resultados da hepatotoxicidade são discutidos e apresentados na secção 3.2. Por último, na secção 3.3 é apresentada a identificação e caracterização da *N*-etilpentilona por RMN num produto apreendido em Portugal.

3.1 Síntese das Catinonas

A síntese das catinonas foi realizada em três passos reacionais (Figura 3.1): (1) formação da α -bromocetona a partir da respetiva cetona; (2) obtenção da catinona na forma de base livre resultante da reação da bromocetona com amina adequada; (3) formação da catinona na forma de hidrocloreto.

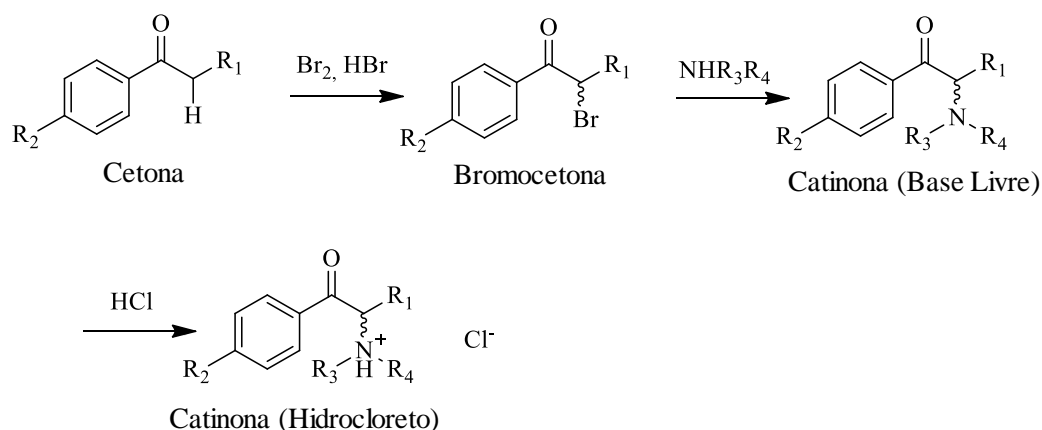


Figura 3.1 - Esquema reacional geral da formação das catinonas na forma de hidrocloreto.

3.1.1 Formação das Bromocetonas

A formação das bromocetonas derivam da reatividade dos hidrogénios α , nas cetonas de partida. O facto destes hidrogénios terem valores de pKa mais baixos, deve-se à presença do grupo carbonilo, atrator de eletrões, que quando em meio ácido o carbono α perde um hidrogénio e dá-se a produção do anião que é estabilizado por ressonância (tautomerismo ceto-énolico).

O primeiro passo para a síntese dos compostos pretendidos (Figura 3.2), consiste então numa halogenação da posição α para o carbonilo, para tal a presença de um meio ácido, HBr neste caso, é necessária para levar à formação lenta de um enol, seguida da reação rápida do enol com o bromo. No final, o produto obtido trata-se de uma mistura racémica, como é usual neste tipo de reações, dado que o ataque nucleofílico ao enol pode ocorrer de duas formas possíveis.

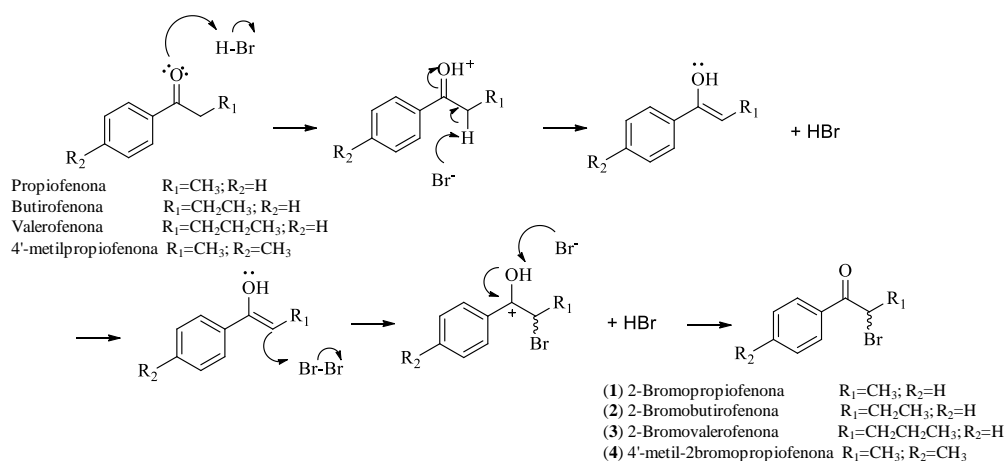


Figura 3.2 - Mecanismo da formação das bromocetonas.

A mistura reacional obtida não passa por nenhum processo de purificação, apenas se confirma a formação da bromocetona por RMN 1H . Por comparação dos espectros de próton das cetonas e respectivas bromocetonas (Figura 3.3 à Figura 3.6), apenas se verifica um aumento dos desvios químicos dos prótons alifáticos nas bromocetonas, devido ao efeito desblindante do átomo de bromo na posição α , e consequentemente este desvio é maior nos prótons α (H-2).

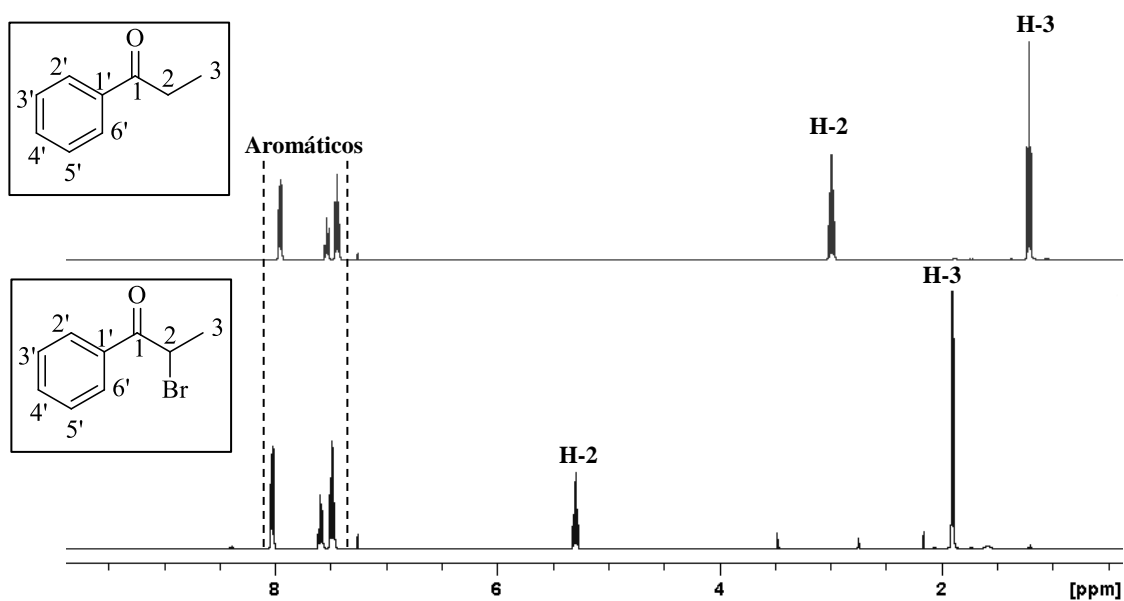


Figura 3.3 - Comparação dos espectros de RMN 1H (400MHz, $CDCl_3$) da propiofenona e respectiva bromocetona.

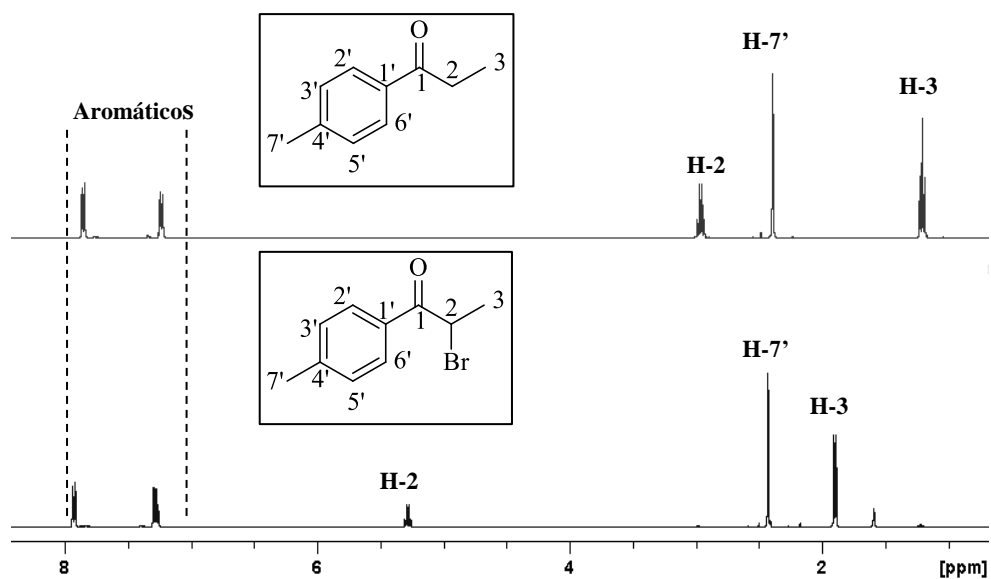


Figura 3.4 - Comparação dos espectros de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) da 4'-metilpropiofenona e respectiva bromocetona.

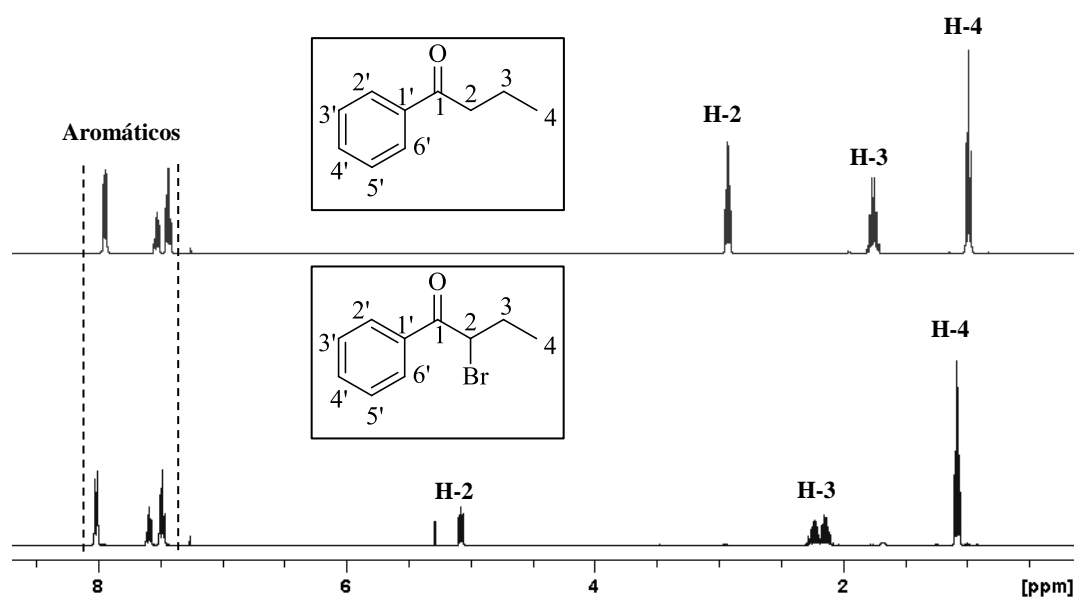


Figura 3.5 - Comparação dos espectros de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) da butirofenona e respectiva bromocetona.

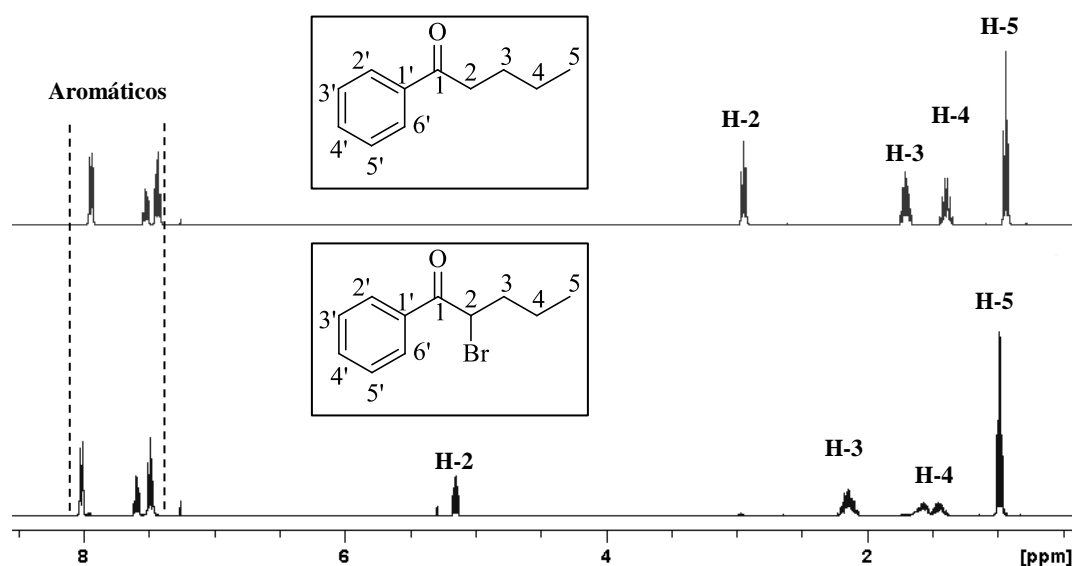


Figura 3.6 - Comparação dos espectros de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) da valerofenona e respectiva bromocetona.

Na Tabela 3.1 apresentam-se todos os sinais de RMN ^1H para as cetonas e bromocetonas. O desvio químico correspondente aos prótons α das cetonas (H-2), aparece entre 2,93-2,99 ppm e integra para 2, enquanto que nas bromocetonas surge entre 5,08-5,30 ppm e integra para 1. Este aumento de desvio químico e a diminuição da integração dos sinais dos prótons H-2 nas bromocetonas, confirma a substituição de um hidrogênio α pelo bromo. É também notório que os prótons H-3 e H-4 dos compostos **2** e **3**, respetivamente, são diastereotópicos.

Tabela 3.1 - Comparação dos dados de RMN ^1H das cetonas e bromocetonas sintetizadas, em CDCl_3 .

	H-2	H-3	H-4	H-5	H2'/ H-6'	H-3'/ H-5'	H-4'	H-7'
Propiofenona	2,99	1,22	-	-	7,95	7,44	7,54	-
2-Bromopropiofenona (1)	5,30	1,90	-	-	8,03	7,49	7,59	-
Butirofenona	2,93	1,76	0,99	-	7,95	7,51	7,53	-
2-Bromobutirofenona (2)	5,08	2,16 2,23	1,08	-	8,02	7,49	7,59	-
Valerofenona	2,95	1,71	1,40	0,94	7,95	7,43	7,53	-
2-Bromovalerofenona (3)	5,15	2,14	1,45 1,57	0,99	8,02	7,49	7,60	-
4'-metilpropiofenona	2,96	1,20	-	-	7,85	7,23	-	2,39
4'-Metil-2-bromopropiofenona (4)	5,28	1,98	-	-	7,93	7,29	-	2,43

Os espectros de RMN ^1H das cetonas e respectivas bromocetonas estão representados desde o Anexo 7.1 ao Anexo 7.8.

3.1.2 Formação das Catinonas

Após a formação das bromocetonas, a mistura reacional bruta reage com a amina selecionada, numa reação de substituição nucleofílica do tipo $\text{S}_\text{N}2$ (Figura 3.7). O nucleófilo ataca o carbono contendo o bromo e à medida que a reação progride, a ligação entre o carbono e a amina fortalece, enfraquecendo a ligação com o bromo, que por consequência é rejeitado. O

produto obtido trata-se da catinona na forma de base livre que posteriormente é precipitada na forma de hidrocloreto.

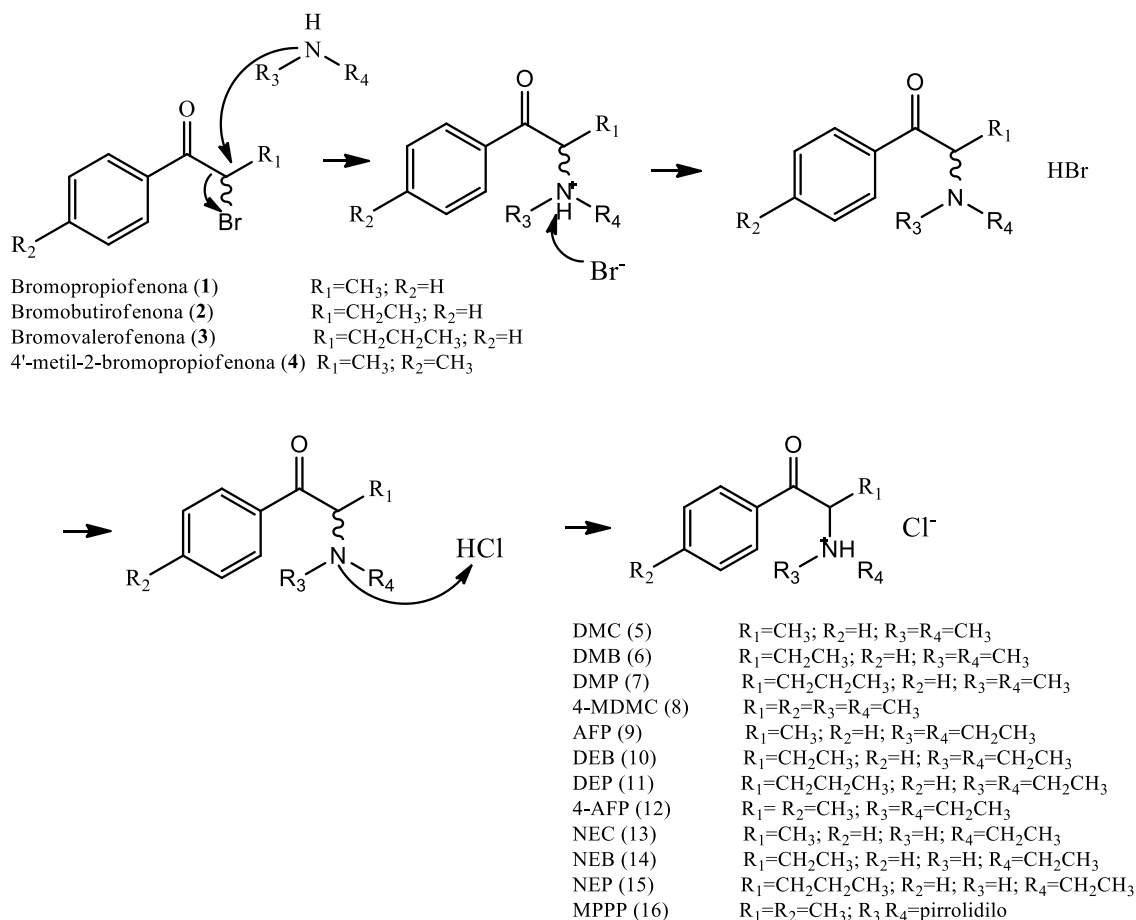


Figura 3.7 - Mecanismo de formação das catinonas.

Na Tabela 3.2 apresentam-se os rendimentos e quantidades de catinonas obtidos nas sínteses realizadas.

Tabela 3.2 - Rendimentos e quantidades obtidos das catinonas sintetizadas.

Catinona	Rendimento (%)	Quantidade (g)	Catinona	Rendimento (%)	Quantidade (g)
DMC (5)	49 %	0,478	DEP (11)	63 %	0,755
DMB (6)	75 %	0,782	4-MAFP (12)	20 %	0,448
DMP (7)	36 %	0,755	NEC (13)	35 %	0,698
4-MDMC (8)	50 %	0,448	NEB (14)	25 %	0,275
AFP (9)	24 %	0,270	NEP (15)	65 %	0,688
DEB (10)	17 %	0,195	MPPP (16)	73 %	1,640

O recurso às experiências de RMN de ^1H e de COSY permitiu a confirmação da estrutura dos compostos sintetizados. Após a atribuição dos sinais de próton dos compostos intermédios, as bromocetonas, foi possível, por comparação destes sinais com os valores dos desvios químicos dos espectros de próton dos respectivos produtos finais, verificar que se tinha sintetizado as catinonas pretendidas.

A título de exemplo, a Figura 3.8 mostra a comparação entre os espectros de próton da catinona estruturalmente mais complexa, a DEP (**11**) e a respetiva bromocetona (**3**). Numa análise preliminar nota-se o aumento do número de sinais no espectro de próton da catinona, nomeadamente o aparecimento dos sinais atribuíveis aos prótons do grupo amino (H-1'', H-2'', H-3'' e H-4'') e do sinal correspondente à protonação da amina (N-H).

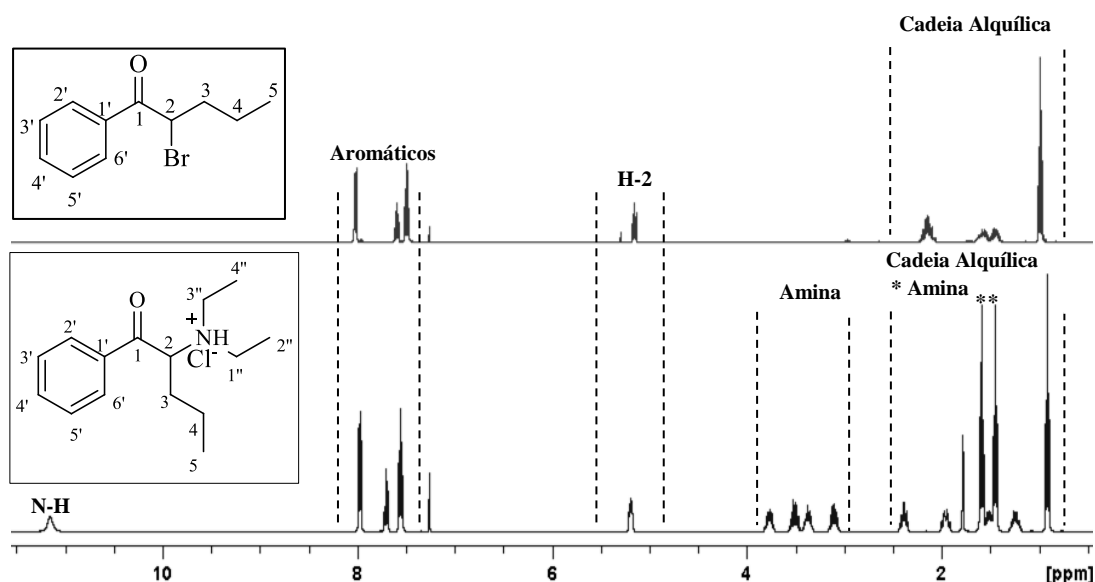


Figura 3.8 - Comparação dos espectros de RMN ^1H da Bromovalerofenona com a Dietilpentedrona (**11**), em CDCl_3 .

Primeiramente, iremos analisar os sinais das catinonas que são semelhantes às bromocetonas, e por último, os sinais adicionais que aparecem no espectro referentes aos grupos amino introduzidos na estrutura dos composto sintetizados.

Tendo em conta as semelhanças estruturais entre as bromocetonas e as catinonas sintetizadas, foi possível, recorrendo apenas aos espectros de protão, atribuir os sinais correspondentes aos protões aromáticos. Estes desvios químicos apresentam-se na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Comparação dos dados de RMN ^1H da zona aromática das bromocetonas e catinonas, em CDCl_3 .

COMPOSTO (sem substituição no anel)	H-2'/H-6' (d, 2H)	H-3'/H-5' (t, 2H)	H-4' (t, 1H)	H-7' (s, 3H)
2-Bromopropiofenona (1)	8,03	7,49	7,59	-
DMC (5)	7,96	7,52	7,66	-
AFP (9)	7,94	7,53	7,67	-
NEC (13)	7,97	7,50	7,64	-
2-Bromobutirofenona (2)	8,02	7,49	7,59	-
DMB (6)	8,02	7,55	7,69	-
DEB (10)	7,99	7,56	7,71	-
NEB (14)	8,02	7,53	7,67	-
2-Bromoalerofenona (3)	8,02	7,49	7,60	-
DMP (7)	8,03	7,56	7,70	-
DEP (11)	7,97	7,54	7,70	-
NEP (15)	8,02	7,53	7,67	-
COMPOSTO (substituição <i>para</i>)	H-2'/H-6' (d, 2H)	H-3'/H-5' (d, 2H)		
4'-Metil-2-bromopropiofenona (4)	7,93	7,29	-	2,43
4-MDMC (8)	7,84	7,32	-	2,42
4-MAFP (12)	7,84	7,33	-	2,44
MPPP (16)	7,83	7,31	-	2,43

Os desvios químicos dos sinais dos protões do anel aromático, quando não existem substituições no anel, variam entre 7,49 e 8,03 ppm, estes valores são característico da zona dos aromáticos⁶². A multiplicidade destes sinais é sempre igual: dois tripletos com integração 1 e 2, correspondentes respectivamente ao par H-3'/H-5' e ao H-4'; e um duplete com integração 2, correspondente ao par H-2'/H-6'. Apesar destas atribuições serem simples, os espectros de COSY permitem confirmá-las, verificando-se sempre as correlações entre os protões *orto/meta* (H-2'/H-3' e H-6'/H-5'), e *meta/para* (H-3'/H-4' e H-5'/H-4'). Estas correlações são exemplificadas na Figura 3.9 para a catinona **11**.

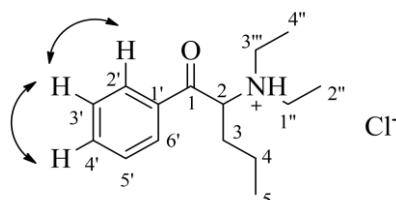


Figura 3.9 - Correlações do COSY da catinona DEP (**11**) relativas ao anel aromático.

Quando se insere um grupo metilo no anel aromático em posição *para*, a presença de menos um sinal da zona aromática, a alteração de multiplicidade para dois dupletos (ambos com integração de 2H) e o aparecimento de um singuleto, entre 2.42-2.44 ppm (gerado por três prótons), atribuível ao grupo metilo C-7', evidenciam esta substituição no anel aromático. Nos espectros de COSY das catinonas **8**, **12** e **16**, é possível confirmar a presença do grupo metilo em C-7, devido à correlação existente entre os prótons H-7' e os prótons H-3'/H-5'.

A diminuição dos desvios químicos dos sinais aromáticos dos pares H-2'/H-6' e H-3'/H-5', comparativamente às catinonas sem substituições no anel, deve-se à presença de um grupo metilo ligado ao C-4'. O mesmo se verifica para a catinona MPPP, de acordo com a bibliografia⁶³.

Na Tabela 3.4 apresenta-se os valores de RMN ¹H correspondentes aos prótons da cadeia alquílica das bromocetonas e das respectivas catinonas.

Tabela 3.4 - Comparação dos dados de RMN ¹H da zona alquílica das bromocetonas e catinonas, em CDCl₃.

COMPOSTO	H-2 (multiplicidade, 1H)	H-3 (d, 3H)	H-4	H-5
COM CADEIA ALQUÍLICA CHCH₃				
2-Bromopropiofenona (1)	5,30; q	1,90	-	-
DMC (5)	5,33; q	1,75	-	-
AFP (9)	5,27; qd	1,84	-	-
NEC (13)	5,08; m	1,81	-	-
4'-Metil-2-bromopropiofenona (4)	5,28; q	1,98	-	-
4-MDMC (8)	5,23; qd	1,75	-	-
4-MAFP (12)	5,26; m	1,85	-	-
MPPP (16)	5,33; m	1,80	-	-
COM CADEIA ALQUÍLICA CHCH ₂ CH ₃	H-2 (multiplicidade, 1H)	H-3 (m, 2H)	H-4 (d, 3H)	H-5
2-Bromobutirofenona (2)	5,08; t	2,19	1,08	-
DMB (6)	5,21; m	2,26 2,08	1,03	-
DEB (10)	5,14; m	2,51 2,08	1,02	-
NEB (14)	5,19; m	2,26 2,46	0,98	-
COM CADEIA ALQUÍLICA CHCH ₂ CH ₂ CH ₃	H-2 (t, 1H)	H-3 (m, 2H)	H-4 (m, 2H)	H-5 (d, 3H)
2-Bromovalerofenona (3)	5,15; t	2,14	1,51	0,99
DMP (7)	5,32; m	2,17 1,99	1,49 1,35	0,92
DEP (11)	5,19; m	2,39 1,95	1,52 1,24	0,91
NEP (15)	5,19; m	2,31 2,17	1,50 1,31	0,85

Na atribuição dos sinais da cadeia alquílica os espectros de COSY foram essenciais, para se verificar as correlações esperadas. A Figura 3.10 exemplifica essas correlações para a catinona DEP **11**.

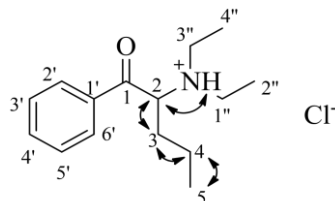


Figura 3.10 - Correlações de COSY da catinona DEP (**11**), relativas à cadeia alquílica da cetona.

Tal como nas bromocetonas (5,08-5,30 ppm), todas as catinonas apresentam um singuleto a cerca de 5 ppm atribuível ao próton H-2 (5,08-5,33 ppm). Esta atribuição foi confirmada pela existência de uma correlação deste próton com o do sinal do N-H em todos os espectros de COSY das catinonas sintetizadas, uma vez que os desvios químicos dos prótons N-H são muito característicos e apareceram como singletos alargados entre 8,52 e 12,54 ppm. Para catinonas com a cadeia alquílica composta por um grupo $-CHCH_3$, como é o caso dos compostos **5**, **8**, **9**, **12**, **13** e **16**, o sinal atribuído aos prótons do grupo CH_3 terminal trata-se de um duplete gerado por três prótons com valores compreendidos entre 1,75-1,85 ppm. A existência de uma correlação em COSY deste sinal com o sinal correspondente ao próton H-2 foi o passo crucial para fazer a sua correta atribuição. Com o aumento da cadeia alquílica, o número de sinais de prótons aumenta, tendo-se verificado o aparecimento de diversos multipletos gerados por 1 próton (dois sinais no caso das catinonas **6**, **10** e **14**; e quatro sinais no caso das catinonas **7**, **11** e **15**), o que significa que os prótons metilénicos em C-3 e C-4 são prótons não equivalentes. De acordo com a bibliografia, a existência de prótons diaestereotópicos deve-se ao facto da rotação da amina ser restrita em catinonas cuja amina se encontra protonada^{64-66,62}. A atribuição dos sinais correspondentes aos prótons metilénicos em C-3 nas catinonas **6**, **7**, **10**, **11**, **14** e **15**, foi facilmente efetuada pela existências de uma correlação em COSY entre o sinal do próton H-2 e o sinal desses prótons metilénicos. De modo semelhante, a existência de uma correlação entre o sinal dos prótons do grupo metilo terminal e os sinais dos prótons metilénicos em C-4 permitiu fazer a atribuição dos prótons metilénicos em C-4 nas catinonas **7**, **11** e **15**.

Por último, na Tabela 3.5 apresentam-se os valores de RMN 1H referentes aos grupo amino presentes nas estruturas das catinonas.

Os sinais que aparecem como singletos alargados entre 8,52 e 12,54 ppm, como já foi regerido anteriormente, são característicos de prótons N-H. Estes sinais, nas catinonas que contêm na sua estrutura aminas terciárias integram para ≈ 1 (compostos **5** a **12**, e **16**), enquanto que, nas catinonas com aminas secundárias integram para ≈ 2 (compostos **13** a **15**). Isto confirma, como era esperado, que as catinonas sintetizadas se encontram na forma protonada.

Tabela 3.5 - Comparação dos dados de RMN ^1H dos grupo amino das catinonas, em CDCl_3 .

CATINONA	ATRIBUIÇÃO				
COM GRUPO ETILAMINO	H-1'' (m, 2H)	H-2'' (t, 3H)	-	-	N-H (sl, 2H)
NEC (13)	3,19	1,53	-	-	9,19 10,50
NEB (14)	3,13 3,32	1,56	-	-	8,52 10,27
NEP (15)	3,11 3,32	1,56	-	-	8,52 10,19
COM GRUPO DIETILAMINO	H-1'' (m, 2H)	H-2'' (t, 3H)	H-3'' (m, 2H)	H-4'' (t, 3H)	N-H (sl, 1H)
AFP (9)	3,62	1,56	3,18 3,50	1,44	12,14
4-MAFP (12)	3,63	1,58	3,20 3,51	1,46	11,34
DEB (10)	3,52 3,76	1,59	3,12 3,39	1,46	11,15
DEP (11)	3,51 3,77	1,59	3,10 3,37	1,45	11,16
COM GRUPO DIMETILAMINO	H-1'' (d, 3H)	H-2'' (d, 3H)	-	-	N-H (sl, 1H)
DMC (5)	3,10	2,96	-	-	12,54
DMB (6)	3,07	2,87	-	-	12,41
DMP (7)	3,08	2,91	-	-	11,48
4-MDMC (8)	3,10	2,93	-	-	12,54
COM GRUPO PIRROLIDILOO	H-1'' (m, 1H)	H-2/3'' (m, 4H)	H-4'' (m, 1H)	-	N-H (sl, 1H)
MPPP (16)	3,12 3,82	2,21	3,62 3,70	-	11,68

No caso das catinonas com um grupo dimetilamino ou etilamino, aparecem dois sinais adicionais nos espectros referentes aos prótons dos grupos amino. No primeiro caso (compostos **5** a **8**), verifica-se a existência de dois dupletos (um entre 2,91-2,96 ppm e o outro 3,07-3,10 ppm), cada um gerado por três prótons, atribuíveis a H-1'' e H-2'', uma vez que têm valores característicos de grupos N-CH_3 . Ambos os sinais, apresentam em COSY uma correlação com o sinal do N-H o que confirma a sua atribuição. No segundo caso (compostos **13** a **15**), o sinal do grupo metilo terminal (H-2''), que aparece entre 1,53-1,56, é mais fácil de atribuir pois espera-se que seja um tripleto com integração 3 e que correlaciona em COSY com os sinais característicos dos prótons metilénicos do grupo N-CH_2 que surgem entre 3,11-3,32 ppm e por isso atribuíveis aos prótons H-1''. Estes prótons são normalmente diaestereotópicos.

No caso das catinonas com um grupo dietilamino (compostos **9** a **12**), os prótons terminais (H-2'' e H-4'') são os mais fáceis de identificar, como referido anteriormente, e a sua atribuição é feita de acordo com as correlações em COSY destes sinais, H-2'' (triplete entre 1,44-1,46 ppm) e H-2'' (triplete entre 1,56-1,58 ppm), respectivamente, com os multipletos dos prótons diaestereotópicos H-1'' e H-3''.

Para a catinona com grupo pirrolidiloo (composto **16**) aparecem dois sinais adicionais, o sinal a 2,21 ppm, gerado por 4 prótons é atribuído aos prótons equivalentes, H-2'' e H-3''. Enquanto que os restantes sinais tratam-se de prótons diaestereotópicos, possíveis de identificar através das correlações em COSY destes prótons com o singuleto alargado 11,68 (N-H) e com o sinal 2,21 ppm dos prótons equivalentes já atribuídos.

A Figura 3.11 mostra estas correlações esperadas para o caso da DEP (**11**).

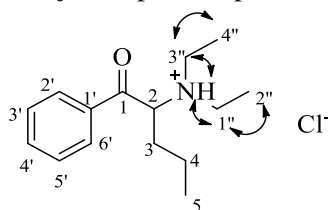


Figura 3.11 - Correlações do COSY da catinona DEP (**11**), na parte do grupo etilamino.

Contudo, com o intuito de se obter uma caracterização completa dos dados de ^1H e ^{13}C das catinonas sintetizadas, para se poder fazer uma base de dados de RMN, fizeram-se uma série de outras experiências de RMN (^{13}C APT; HSQC e HMBC). A técnica de HSQC foi essencial para se fazer as atribuições diretas entre carbono-próton, uma vez que os prótons já tinham sido atribuídos pelos espectros de ^1H e COSY. As correlações obtidas nos espectros de HMBC (correlações carbono-próton a 2 e 3 ligações) foram cruciais para se poderem atribuir os carbonos quaternários.

A catinona **11** tem dois carbonos quaternários, o sinal δ 196,09 é atribuído ao C-1, além de ser característico do grupo cetona, correlaciona-se com os prótons H-2'/H-6'. O segundo carbono quaternário é o C-1' ao qual é atribuído o sinal δ 135,46 pelas correlações com o sinal atribuído ao par H-3'/H-5'. Além destas atribuições, o HMBC permitiu confirmar as atribuições que foram feitas apenas recorrendo ao ^1H e COSY. Na Figura 3.12 apresentam-se as correlações de HMBC mais importantes, nomeadamente a identificação dos carbonos quaternários.

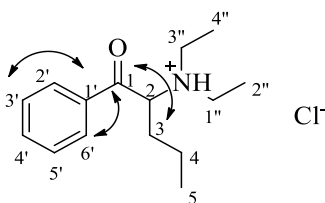


Figura 3.12 - Correlações do HMBC para identificação dos carbonos quaternários.

De seguida apresentam-se as tabelas referentes às atribuições de todas as catinonas sintetizadas.

Na Figura 3.13 apresenta-se a estrutura numerada da catinona DMC (**5**). Na Tabela 3.6 e Tabela 3.7 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.9 ao Anexo 7.13.

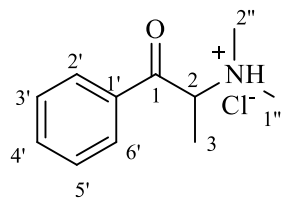


Figura 3.13 - Estrutura numerada da *N,N*-dimetilcatinona (DMC) (**5**).

Tabela 3.6 - Dados de RMN ^1H e COSY para *N,N*-dimetilcatinona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,33	1H	q	6,7	1,75
H-3	1,75	3H	d	7,2	5,33
H-2' e H-6'	7,96	2H	d	7,5	7,52
H-3' e H-5'	7,52	2H	t	7,68	7,96; 7,66
H-4'	7,66	1H	t	7,4	7,52
H-1''^a	3,10	2H	d	3,6	12,54
H-2''^a	2,96	2H	d	3,5	12,54
NH	12,54	1H	sl	-	3,10; 2,96

^a As atribuições ao par de sinais a poderão estar trocadas.

Tabela 3.7 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a *N,N*-dimetilcatinona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	195,67 (-)	-	7,99; 5,35; 1,75
C-2	62,40 (+)	5,33	1,75; 2,96; 3,10
C-3	15,63 (+)	1,75	5,33
C-1'	133,69 (-)	-	7,52
C-2'/C-6'	128,61 (+)	7,96	7,66; 7,96
C-3'/C-5'	129,29 (+)	7,52	7,96
C-4'	134,98 (+)	7,66	7,96
C-1''	37,82 (+)	3,10	5,33; 2,96
C-2''	42,25 (+)	2,96	5,33; 3,10

Na Figura 3.14 apresenta-se a estrutura numerada da catinona DMB (**6**). Na Tabela 3.8 e Tabela 3.9 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.14 ao Anexo 7.18.

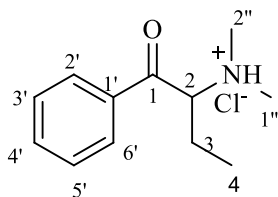


Figura 3.14 - Estrutura numerada da *N,N*-dimetilbufedrona(DMB) (**6**).

Tabela 3.8 - Dados de RMN ^1H e COSY para *N,N*-dimetilbufedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,21	1H	m	-	12,41; 2,08; 2,26
H-3	2,26 2,08	2H	m	-	1,03; 2,08; 5,21 1,03; 2,26; 5,21
H-4	1,03	3H	t	7,5	2,26; 2,08
H-2' e H-6'	8,02	2H	d	7,7	7,55
H-3' e H-5'	7,55	2H	t	7,6	8,02; 7,69
H-4'	7,69	1H	t	7,4	7,55
H-1''^a	3,07	2H	d	4,8	12,41
H-2''^a	2,87	2H	d	4,7	12,41
NH	12,41	1H	sl	-	5,21; 3,07; 2,87

^a As atribuições ao par de sinais a poderão estar trocadas.

Tabela 3.9 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a *N,N*-dimetilbufedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	196,28 (-)	-	8,02; 2,08; 2,26
C-2	65,62 (+)	5,21	3,07; 2,87; 2,26; 2,08; 1,03
C-3	23,42 (-)	2,26; 2,06	1,03
C-4	10,57 (+)	1,03	2,26; 2,06
C-1'	135,68 (-)	-	7,55
C-2'/C-6'	128,67 (+)	8,02	8,02; 7,69
C-3'/C-5'	129,41 (+)	7,55	7,55
C-4'	135,23 (+)	7,69	8,02
C-1''	38,22 (+)	3,07	2,87
C-2''	42,80 (+)	2,87	3,07

Na Figura 3.15 apresenta-se a estrutura numerada da catinona DMP (**7**). Na Tabela 3.10 e Tabela 3.11 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.19 ao Anexo 7.23.

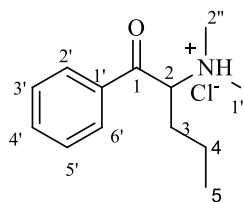


Figura 3.15 - Estrutura numerada da *N,N*-Dimetilpentadrona (DMP) (**7**).

Tabela 3.10 - Dados de RMN ^1H e COSY para *N,N*-dimetilpentadrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,32	1H	m	-	1,99; 2,17; 11,46
H-3	2,17	1H	m	-	1,32; 1,99; 5,32
	1,99	1H	m		1,49; 2,17; 5,32
H-4	1,49	1H	m	-	0,92; 1,99
	1,35	1H	m		0,92; 2,17
H-5	0,92	3H	t	7,3	1,49; 1,35
H-2' e H-6'	8,03	2H	d	7,6	7,56
H-3' e H-5'	7,56	2H	t	7,7	8,03; 7,70
H-4'	7,70	1H	t	7,4	7,56
H-1''^a	3,08	2H	d	5,0	11,48
H-2''^a	2,91	2H	d	5,0	11,48
NH	11,48	1H	sl	-	5,32; 3,08; 2,91

^a As atribuições ao par de sinais a poderão estar trocadas.

Tabela 3.11 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a *N,N*-dimetilpentadrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	195,98 (-)	-	8; 2,17,03
C-2	64,91 (+)	5,32	3,08; 2,91; 2,17
C-3	31,97 (-)	2,17; 1,99	1,35; 0,92
C-4	19,27 (-)	1,49; 1,35	2,17; 0,92
C-5	13,93 (+)	0,92	1,49; 1,35
C-1'	135,35 (+)	-	7,56
C-2'/C-6'	128,75 (+)	8,03	8,03; 7,70
C-3'/C-5'	129,47 (+)	7,56	7,56
C-4'	135,31 (-)	7,70	8,03
C-1''	38,84 (+)	3,08	2,91
C-2''	42,82 (+)	2,91	3,08

Na Figura 3.16 apresenta-se a estrutura numerada da catinona 4-MDMC (**8**). Na Tabela 3.12 e Tabela 3.13 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.24 ao Anexo 7.28

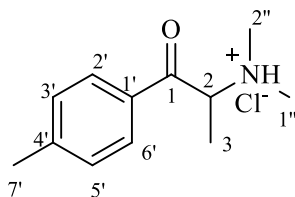


Figura 3.16 - Estrutura numerada da *N,N*-4-metildimetcatinona (4-MDMC) (**8**).

Tabela 3.12 - Dados de RMN ^1H e COSY para *N,N*-4-metildimetcatinona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,20	1H	qd	7,2; 3,4	1,75; 12,54
H-3	1,75	3H	d	7,2	5,20
H-2' e H-6'	7,84	2H	d	8,2	7,32
H-3' e H-5'	7,32	2H	d	8,0	7,84; 2,42
H-7'	2,42	3H	s	-	7,32
H-1''^a	3,10	3H	d	5,0	12,54
H-2''^a	2,93	3H	d	4,9	12,54
NH	12,54	1H	sl	-	5,32; 3,10; 2,93

^a As atribuições ao par de sinais a poderão estar trocadas.

Tabela 3.13 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a *N,N*-4-metildimetcatinona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	195,10 (-)	-	7,84; 5,20; 1,75
C-2	62,12 (+)	5,20	3,10; 2,93; 1,75
C-3	15,82 (+)	1,75	5,20
C-1'	131,20 (-)	-	7,32
C-2'/C-6'	128,70 (+)	7,84	7,84
C-3'/C-5'	130,00 (+)	7,32	7,32; 2,42
C-4'	146,46 (+)	-	7,84; 2,42
C-7'	21,78 (+)	2,42	7,32
C-1''	37,62 (+)	3,10	5,20; 2,93
C-2''	42,33 (+)	2,93	3,10

Na Figura 3.17 apresenta-se a estrutura numerada da catinona AFP (9). Na Tabela 3.14 e Tabela 3.15 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.29 ao Anexo 7.32.

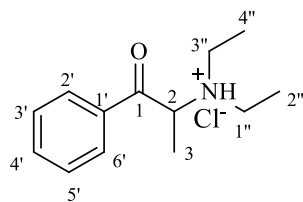


Figura 3.17 - Estrutura numerada da Anfepramona (AFP) (9).

Tabela 3.14 - Dados de RMN ^1H e COSY para anfepramona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,27	1H	qd	7,8; 2,8	12,14; 1,84
H-3	1,84	3H	d	7,2	5,27
H-2' e H-6'	7,94	2H	d	7,8	7,53
H-3' e H-5'	7,53	2H	t	7,7	7,94; 7,67
H-4'	7,67	1H	t	7,4	7,53
H-1''^a	3,56	2H	m	-	1,56
H-2''^b	1,56	3H	t	7,4	3,62
H-3''^a	3,56 3,18	1H 1H	m	-	1,44
H-4''^b	1,44	3H	t	7,3	3,18
NH	12,14	1H	sl	-	3,68; 3,50; 3,18

^{a,b} As atribuições aos pares de sinais a e b poderão estar trocadas.

Tabela 3.15 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a anfepramona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	195,40 (-)	-	7,94; 5,27; 1,84
C-2	59,70 (+)	5,27	3,50; 1,84
C-3	15,71 (+)	1,84	5,27
C-1'	133,41 (-)	-	7,53
C-2'/C-6'	128,43 (+)	7,94	7,94; 7,67
C-3'/C-5'	129,40 (+)	7,53	7,53
C-4'	135,03 (+)	7,67	7,94
C-1''	45,59 (-)	3,62	5,27; 3,18; 1,84
C-2''	11,79 (+)	1,56	3,62
C-3''	47,62 (-)	3,50; 3,18	3,62; 1,44
C-4''	10,35 (+)	1,44	3,50; 3,18

Na Figura 3.18 apresenta-se a estrutura numerada da catinona DEB (**10**). Na Tabela 3.16 e Tabela 3.17 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.33 ao Anexo 7.37.

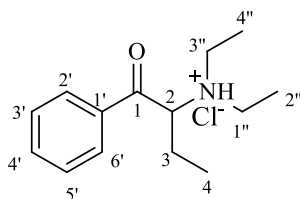


Figura 3.18 - Estrutura numerada da *N,N*-dietilbufedrona (DEB) (**10**).

Tabela 3.16 - Dados de RMN ^1H e COSY para *N,N*-dietilbufedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,15	1H	m	-	2,51; 2,07
H-3	2,51 2,08	2H	m	-	5,15; 2,08; 1,02 5,15; 2,51; 1,02
H-4	1,02	3H	t	6,2	2,51; 2,08
H-2' e H-6'	7,99	1H	d	7,6	7,56
H-3' e H-5'	7,56	1H	t	7,7	7,99; 7,71
H-4'	7,71	1H	t	7,3	7,56
H-1''^a	3,76 3,52	1H 1H	m	-	3,52; 1,59 3,75; 1,59
H-2''^b	1,59	3H	t	7,4	3,75; 3,46
H-3''^a	3,39 3,12	1H	m	-	3,12; 1,46 3,39; 1,46
H-4''^b	1,46	3H	t	7,3	3,39; 3,12
NH	11,15	1H	sl	-	5,15; 3,37; 3,52; 3,39; 3,12

^{a,b} As atribuições aos pares de sinais a e b poderão estar trocadas.

Tabela 3.17 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a *N,N*-dietilbufedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	195,96 (-)	-	7,99; 2,51; 2,07
C-2	63,70 (+)	5,15	1,02
C-3	23,57 (-)	2,51; 2,08	1,02
C-4	11,18 (+)	1,02	3,75; 3,46
C-1'	135,50 (-)	-	7,56
C-2'/C-6'	128,61 (+)	7,99	7,99; 7,71
C-3'/C-5'	129,46 (+)	7,56	7,56
C-4'	135,30 (+)	7,71	7,99
C-1''	45,95 (-)	3,76; 3,52	1,60
C-2''	11,64 (+)	1,59	3,75; 3,46
C-3''	48,02 (-)	3,39; 3,12	1,46
C-4''	10,16 (+)	1,46	3,46; 3,11

Na Figura 3.19 apresenta-se a estrutura numerada da catinona DEP (**11**). Na Tabela 3.18 e Tabela 3.19 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.38 ao Anexo 7.42.

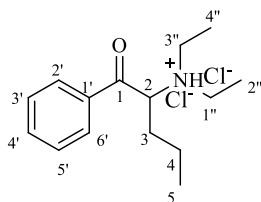


Figura 3.19 - Estrutura numerada da *N,N*-dietilpentedrona (DEP) (**11**).

Tabela 3.18 - Dados de RMN ^1H e COSY para *N,N*-dietilpentedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,19	1H	m	-	2,39; 1,95
H-3	2,39 1,95	2H	m	-	5,19; 1,95; 1,24 5,19; 2,39; 1,52
H-4	1,52 1,24	2H	m	-	2,39; 1,95; 1,24; 0,91 2,39; 1,95; 1,52; 0,91
H-5	0,91	3H	t	7,3	1,24; 1,52
H-2' e H-6'	7,97	1H	d	7,4	7,55
H-3' e H-5'	7,55	1H	t	7,8	7,97; 7,70
H-4'	7,70	1H	t	7,4	7,55
H-1''^a	3,77 3,51	2H	m	-	11,16; 3,51; 1,59 11,16; 3,77; 1,59
H-2''^b	1,59	3H	t	7,4	3,77; 3,51
H-3''^a	3,37 3,10	2H	m	-	11,16; 3,10; 1,45 11,16; 3,37; 1,45
H-4''^b	1,45	3H	t	7,3	3,37; 3,10
NH	11,16	1H	sl	-	5,19; 3,77 3,50; 3,37; 3,10

^{a,b} As atribuições aos pares de sinais a e b poderão estar trocadas.

Tabela 3.19 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a N,N-dietilpentedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_c	HSQC	HMBC
C-1	196,03 (-)	-	7,97; 2,39
C-2	62,39 (+)	5,19	3,76; 3,37; 3,10; 2,39; 1,95; 1,52; 1,24
C-3	32,11 (-)	2,39; 1,95	1,52; 1,24; 0,91
C-4	19,99 (-)	1,52; 1,24	2,39; 0,91
C-5	14,03 (+)	0,91	1,52; 1,25
C-1'	135,40 (-)	-	7,55
C-2'/C-6'	128,56 (+)	7,97	7,97; 7,70
C-3'/C-5'	129,47 (+)	7,55	7,55
C-4'	135,29 (+)	7,70	7,97
C-1''	45,84 (-)	3,77; 3,51	3,37; 3,10; 1,59
C-2''	11,66 (+)	1,59	3,77; 3,51
C-3''	48,10 (-)	3,37; 3,10	3,77; 3,51; 1,45
C-4''	10,17 (+)	1,45	3,37; 3,10

Na Figura 3.20 apresenta-se a estrutura numerada da catinona 4-MAFP (**12**). Na Tabela 3.20 e Tabela 3.21 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.43 ao Anexo 7.47.

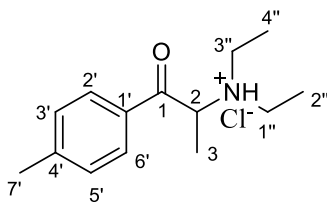


Figura 3.20 - Estrutura numerada da *N,N'*-4'-metilanfeparamona (4-MAFP) (**12**).

Tabela 3.20 - Dados de RMN ^1H e COSY para *N,N'*-4'-metilanfeparamona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,26	1H	m	-	11,34; 1,85
H-3	1,85	3H	d	7,1	5,26
H-2' e H-6'	7,84	2H	d	8,1	7,33
H-3' e H-5'	7,33	2H	d	7,9	7,84; 2,44
H-7'	2,44	1H	s	-	7,33
H-1''^a	3,63	2H	m	-	1,58; 1,46
H-2''^b	1,58	3H	t	7,4	3,63
H-3''^a	3,51 3,20	2H	m	-	1,58; 1,46
H-4''^b	1,46	3H	t	7,2	3,51; 3,20
NH	11,34	1H	s	-	5,26; 3,63; 3,51

^{a,b} As atribuições aos pares de sinais a e b poderão estar trocadas.

Tabela 3.21 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a *N,N'*-4'-metilanfeparamona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	194,66 (-)	-	7,84; 1,85
C-2	59,80 (+)	5,26	3,63; 3,20; 1,85
C-3	15,85 (+)	1,85	
C-1'	146,56 (-)	-	7,84; 2,44
C-2'/C-6'	128,61 (+)	7,84	7,84
C-3'/C-5'	130,10 (+)	7,33	2,44
C-4'	130,77 (-)	-	7,33
C-7'	21,79 (+)	2,44	7,33
C-1''	45,83 (-)	3,57	1,58
C-2''	11,82 (+)	1,58	3,63
C-3''	47,76 (-)	3,57; 3,20	5,26
C-4''	10,31 (+)	1,46	3,63; 3,20

Na Figura 3.21 apresenta-se a estrutura numerada da catinona NEC (**13**). Na Tabela 3.22 e Tabela 3.23 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.48 ao Anexo 7.52.

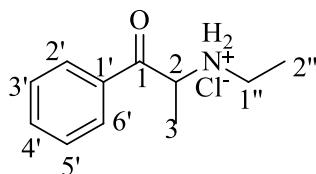


Figura 3.21 - Estrutura numerada da N-etilcatinona (NEC) (**13**).

Tabela 3.22 - Dados de RMN ^1H e COSY para N-etilcatinona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,08	1H	m	-	10,50; 9,19; 1,81
H-3	1,81	3H	d	7,0	5,08
H-2' e H-6'	7,97	2H	d	7,6	7,50
H-3' e H-5'	7,50	2H	t	7,6	7,97; 7,64
H-4'	7,64	1H	t	7,4	7,50
H-1''	3,19	2H	m	-	5,08; 3,19; 1,53
H-2''	1,53	3H	t	7,1	3,19
NH₂	10,50 9,19	2H	sl sl	-	9,19; 5,08; 3,19 10,50; 5,08; 3,19

Tabela 3.23 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para N-etilcatinona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	194,79 (-)	-	7,97; 1,81
C-2	57,95 (+)	5,08	1,81
C-3	16,52 (+)	1,81	-
C-1'	132,91 (-)	-	7,50
C-2'/C-6'	128,85 (+)	7,97	7,97; 7,64
C-3'/C-5'	129,18 (+)	7,50	7,50
C-4'	134,70 (+)	7,64	7,97
C-1''	42,98 (-)	3,19	1,53
C-2''	11,75 (+)	1,53	-

Na Figura 3.22 apresenta-se a estrutura numerada da catinona NEB (**14**). Na Tabela 3.24e Tabela 3.25 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.53 ao Anexo 7.57.

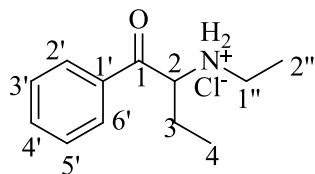


Figura 3.22 - Estrutura numerada da N-etilbufedrona (NEB) (**14**).

Tabela 3.24 - Dados de RMN ^1H e COSY para N-etilbufedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,19	2H	m	-	8,52; 2,46; 2,26
H-3	2,26 2,46	2H	m	-	5,19; 2,46; 0,98 5,19; 2,26; 0,98
H-4	0,98	3H	t	6,8	2,47; 2,26
H-2' e H-6'	8,02	1H	d	7,3	7,54
H-3' e H-5'	7,53	1H	t	7,2	7,67; 8,03
H-4'	7,67	1H	t	7,2	7,54
H-1''	3,32 3,13	2H	m m	-	8,56; 3,32; 1,56 10,31; 3,32; 1,56
H-2''	1,56	3H	m	-	3,14; 3,34
NH₂	8,52 10,27	1H 1H	sl sl	-	10,27; 5,19; 3,32 8,52; 3,13

Tabela 3.25 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para N-etilbufedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	194,82 (-)	-	8,02
C-2	62,51 (+)	5,19	0,98
C-3	24,01 (-)	2,46; 2,26	0,98
C-4	9,15 (+)	0,98	-
C-1'	133,79 (-)	-	7,53
C-2'/C-6'	128,88 (+)	8,02	7,67
C-3'/C-5'	129,27 (+)	7,53	8,02
C-4'	134,96 (+)	7,67	8,02
C-1''	42,92 (-)	3,33; 3,13	1,56
C-2''	11,78 (+)	1,56	-

Na Figura 3.23 apresenta-se a estrutura numerada da catinona NEP (**15**). Na Tabela 3.26 e Tabela 3.27 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.58 ao Anexo 7.62.

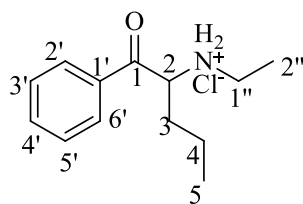


Figura 3.23 - Estrutura numerada da *N*-etilpentedrona (NEP) (**15**).

Tabela 3.26 - Dados de RMN ^1H e COSY para *N*-etilpentedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,19	1H	m	-	8,52; 2,31; 2,17
H-3	2,31	1H	m	-	5,19; 2,17; 1,31
	2,17	1H			5,19; 2,31; 1,50
H-4	1,50	1H	m	-	2,31; 1,50; 0,85
	1,31	1H			2,17; 1,50; 0,85
H-5	0,85	3H	t	7,1	1,50; 1,31
H-2' e H-6'	8,02	2H	d	7,6	7,54
H-3' e H-5'	7,54	2H	t	7,5	8,02; 7,67
H-4'	7,67	1H	t	7,3	7,54
H-1''	3,32	1H	m	-	3,11; 1,56; 1,31
	3,11	1H			10,18; 3,32; 1,56
H-2''	1,56	3H	t	6,8	3,32; 3,11
NH₂	10,19	2H	sl	-	8,52; 3,11
	8,52		sl		10,19; 5,19; 3,32

Tabela 3.27 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para *N*-etilpentedrona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	194,97 (-)	-	8,02
C-2	61,74 (+)	5,19	-
C-3	32,68 (-)	2,31; 2,17	1,50; 1,31; 0,85
C-4	18,24 (-)	1,50; 1,31	0,85
C-5	13,81 (+)	0,85	1,50; 1,31
C-1'	133,81 (+)	-	7,53
C-2'/C-6'	128,87 (+)	8,02	8,02; 7,67
C-3'/C-5'	129,27 (+)	7,54	7,54
C-4'	134,97 (+)	7,67	8,02
C-1''	42,92 (-)	3,32; 3,11	1,56
C-2''	11,76 (+)	1,56	-

Na Figura 3.24 apresenta-se a estrutura numerada da catinona MPPP (**16**). Na Tabela 3.28 e Tabela 3.29 os dados obtidos nos espectros 1D e 2D de RMN. Os espectros são apresentados do Anexo 7.63 ao Anexo 7.67.

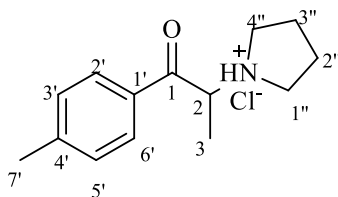


Figura 3.24 - Estrutura numerada da 4'-metil-α-pirrolidinopropiofenona (MPPP) (**16**).

Tabela 3.28 - Dados de RMN ^1H e COSY para 4'-metil-α-pirrolidinopropiofenona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{H}	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,33	1H	m	-	11,68; 1,80
H-3	1,80	3H	d	6,8	5,32
H-2' e H-6'	7,83	2H	d	8,0	7,31; 2,43
H-3' e H-5'	7,31	2H	d	7,8	7,83
H-7'	2,43	3H	s	-	7,31
H-1'' ^a	3,82	1H	m	-	11,68; 3,82; 2,21
	3,12	1H			11,68; 3,12; 2,21
H-2'' e H-3''	2,21	4H	m	-	3,82; 3,66; 3,1
H-4'' ^a	3,70	1H	m	-	3,62; 2,21
	3,62	1H			11,68; 3,70; 2,21
NH	11,68	1H	sl	-	5,32; 3,82; 3,70; 3,62; 3,12

^a As atribuições ao par de sinais a poderão estar trocadas.

Tabela 3.29 - Dados de RMN ^{13}C 1D e 2D para a 4'-metil-α-pirrolidinopropiofenona, em CDCl_3 .

Atribuição	δ_{C}	HSQC	HMBC
C-1	194,83 (-)	-	7,83; 1,80
C-2	61,26 (+)	5,33	1,80
C-3	16,66 (+)	1,80	5,14
C-1'	130,93 (-)	-	7,31
C-2'/C-6'	128,78 (+)	7,83	7,83
C-3'/C-5'	130,00 (+)	7,31	7,31
C-4'	146,40 (-)	-	7,83; 2,43
C-7'	21,81 (+)	2,43	7,31
C-1''	52,59 (-)	3,82; 3,12	2,21
C-2''	24,32 (+)	2,21	2,21
C-3''	24,09 (+)	2,21	2,21
C-4''	50,00 (-)	3,70; 3,62	2,21

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica da caracterização por RMN das catinonas sintetizadas. É de salientar, que foram apenas encontrados dados de RMN na literatura para 6 catinonas, NEC (1), NEB (2), AFP (4), em D₂O e em CDCl₃ para a NEP (3), e em ambos os solventes para a DMC (8) e MPPP (12).⁶⁷⁻⁷³ Os dados obtidos para a NEP (3) em CDCl₃ são semelhantes aos publicados na literatura.

As catinonas em estudo foram caracterizadas por GC-MS, uma técnica mais sensível a pequenas do que o RMN, com o objetivo de se confirmar a sua pureza, previamente verificada pelos espectros de RMN. Os cromatogramas e os espectros de massa apresentam-se no Anexo 7.73 ao Anexo 7.96. A Figura 3.25 representa, de uma forma geral, os possíveis fragmentos para as catinonas em estudo.

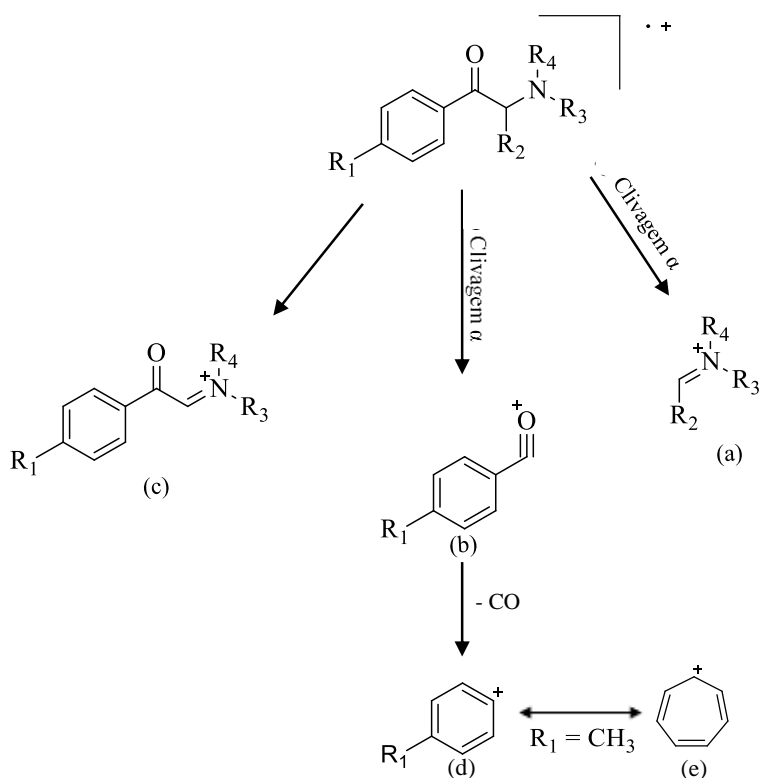
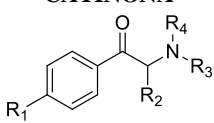


Figura 3.25 - Padrão geral de fragmentação de espectroscopia de massa das catinonas sintetizadas.

Através dos fragmentos obtidos pelos processos de clivagem α, que são únicos e contêm informações essenciais à caracterização de uma determinada estrutura, é possível identificar as diferentes catinonas. A formação do íon imínio (a) é uma fragmentação característica das catinonas, resultante da clivagem α do grupo carbonila e com a localização da carga positiva no átomo de nitrogênio, sendo, por isso, a clivagem preferível nestas moléculas. Deste modo, este fragmento é sempre o pico base no espectro de massa e seu valor de m/z varia de acordo com o tamanho da cadeia alifática e com o tipo de amina presente na estrutura da catinona, tal como se pode verificar nos dados obtidos e apresentados na Tabela 3.30. Para a mesma zona da molécula existe ainda uma fragmentação alternativa para a clivagem α, em que a carga positiva fica alojada no átomo de oxigênio, formando-se o íon acílio (b), de menor intensidade no espectro de massa. Este fragmento pode perder monóxido de carbono e consequentemente originar a formação do catião fenílio ou metilfenílio (d). Quando na posição 4 do anel aromático existe um grupo metilo a perda de monóxido de carbono origina o catião tropílio (e)⁷⁴. Para catinonas com os grupos dietilamino ou pirrolidiloo, verifica-se a existência no espectro de massa de outros fragmentos de baixa intensidade, resultantes da fragmentação destes grupos⁷⁵⁻⁷⁷.

Tabela 3.30 - Dados obtido por GC-MS para as catinonas.

<div> <div>CATINONA</div>  </div>	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	TR (MIN)	PICO BASE (m/z)	FRAGMENTOS CARACTERÍSTICOS (m/z)
DMC (5)	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	7,50	72	(b) 105 (d) 77
DMB (6)	H	CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	8,24	86	(b) 105 (d) 77
DMP (7)	H	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	9,13	100	(b) 105 (d) 77
4-MDMC (8)	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	9,78	72	(b) 119 (d) 91
AFP (9)	H	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	8,93	100	(b) 105 (d) 77
DEB (10)	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	9,52	114	(b) 105 (d) 77
DEP (11)	H	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	10,31	128	(b) 105 (d) 77
4-MAFP (12)	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	10,13	100	(b) 119 (d) 91
NEC (13)	H	CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	7,71	72	(b) 105 (d) 77
NEB (14)	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	8,45	86	(b) 105 (d) 77
NEP (15)	H	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	9,31	100	(b) 105 (d) 77
MPPP (16)	CH ₃	CH ₃	Pirrolidilo		11,38	98	(b) 119 (d) 91

Relativamente à pureza, todas as catinonas apresentam apenas um pico com um valor diferente de tempo de retenção (T_R) no cromatograma do CG-MS (tabela 3.30) o que significa que a pureza estimada por esta técnica é de 100%. Os compostos sintetizados foram ainda analisados por HR-MS-ESI (Tabela 3.31), o que permitiu confirmar a sua fórmula molecular e consequentemente verificar que a sua pureza, relativamente a impurezas não isoméricas, é elevada uma vez que os desvios foram menores ou iguais a 6 ppm.

Tabela 3.31 - Resultados de Alta Resolução para as catinonas sintetizadas.

Catinona	[M+H] ⁺	Massa Esperada	Massa obtida	Erro (ppm)	Catinona	[M+H] ⁺	Massa Esperada	Massa obtida	Erro (ppm)
DMC (5)	C ₁₁ H ₁₆ NO	178,1226	178,1226	0,5	DEP (11)	C ₁₅ H ₂₄ NO	234,1849	234,1852	1,5
DMB (6)	C ₁₂ H ₁₈ NO	192,1383	192,1383	-0,1	4-MAFP (12)	C ₁₄ H ₂₃ NO	220,1695	220,1696	0,6
DMP (7)	C ₁₃ H ₂₀ NO	206,1538	206,1539	0,5	NEC (13)	C ₁₁ H ₁₆ NO	178,1216	178,1226	6,0
4-MDMC (8)	C ₁₂ H ₁₈ NO	192,1381	192,1383	1,2	NEB (14)	C ₁₂ H ₁₈ NO	192,1373	193,1373	5,4
AFP (9)	C ₁₃ H ₂₀ NO	206,1532	206,1539	3,8	NEP (15)	C ₁₃ H ₂₀ NO	206,1533	206,1539	2,9
DEB (10)	C ₁₄ H ₂₂ NO	220,1690	220,1696	2,7	MPPP (16)	C ₁₄ H ₂₀ NO	218,1538	218,1539	0,8

Após se verificar por RMN, GC-MS e HR-MS-ESI que todos os compostos apresentavam uma elevada pureza procedeu-se aos ensaios de citotoxicidade.

3.2 Ensaios de Hepatotoxicidade

De forma a testar a citotoxicidade das 13 catinonas foi feito um estudo de viabilidade celular em linhas celulares do cancro do fígado Hep G2. Este tipo de ensaios são frequentemente realizados com o intuito de se obter resultados preliminares sobre o potencial citotóxico de compostos quando em contacto com células e de modo a avaliar se estes poderão levar à morte celular. Para as catinonas sintetizadas não foram encontrados na bibliografia estudos da hepatotoxicidade das mesmas.

De acordo com o procedimento descrito em 4.4 as 13 catinonas foram avaliadas relativamente à sua citotoxicidade contra células do cancro do fígado tendo sido utilizado o MTT para avaliação da viabilidade celular. Para esse fim foram testadas diversas concentrações de cada catinona em contacto 24 h com a linha celular Hep G2 de modo a elaborar para cada catinona uma curva dose-resposta.

3.2.1 Curvas Dose-Resposta

Na Tabela 3.32 apresentam-se para as 12 catinonas sintetizadas (**5 – 16**) e para a 3,4-DMMC (**17**) os resultados dos diferentes parâmetros obtidos a partir das curvas dose-resposta de citotoxicidade na gama de concentrações entre 0,05 - 16 mM.

Tabela 3.32 - Parâmetros da citotoxicidade das catinonas estudadas neste trabalho e o erro relativo associado ao desvio à média dos valores de EC₅₀.

	Catinona	EC ₅₀ (mM)	Limite Mínimo (mM)	Limite Máximo (mM)	Declive	Erro Relativo (%)
COM GRUPO DIMETILAMINO	DMC (5)	7,834 ± 0,525	5,07	15,80	2,970	6,7
	DMB (6)	1,184 ± 0,202	0,14	2,08	1,498	17,1
	DMP (7)	1,087 ± 0,206	0,95	1,45	8,729	2,4
	4-MDMC (8)	0,814 ± 0,091	0,29	1,91	1,749	11,2
COM GRUPO DIETILAMINO	AFP (9)	6,623 ± 0,130	6,00	7,19	11,730	2,0
	DEB (10)	1,816 ± 0,055	1,39	4,25	5,211	3,0
	DEP (11)	1,494 ± 0,047	1,06	3,05	4,921	3,1
	4-MAFP (12)	5,423 ± 0,181	4,33	9,95	4,526	3,3
COM GRUPO ETILAMINO	NEC (13)	1,983 ± 0,087	1,14	2,56	5,154	4,4
	NEB (14)	1,235 ± 0,067	0,92	1,34	5,261	5,5
	NEP (15)	1,526 ± 0,131	0,39	9,08	2,118	8,6
COM GRUPO PIRROLIDILOO	MPPP (16)	2,320 ± 0,097	1,82	3,82	4,38	4,2
COM GRUPO METILAMINO	3,4-DMMC (17)	1,181 ± 0,042	0,97	4,94	4,053	3,6

Como se pode constatar na Tabela 3.32 os valores EC₅₀ são da ordem de grandeza dos mM e variam entre 0,814 mM a 7,834 mM. A 4-MDMC (**8**) é a catinona que apresenta o menor valor de EC₅₀ e portanto maior toxicidade, seguida da DMP (**7**) e DMB (**6**) cujo valores de EC₅₀ são muito semelhantes à 3,4-DMMC (**17**). Neste sentido, os resultados parecem indicar quando se comparam todas as catinonas, que as que possuem o grupo dimetilamino, DMB (**6**), DMP (**7**) e 4-MDMC (**8**), assim como a 3,4-DMMC (**17**), com duas substituições no anel aromático, são as mais tóxicas.

Foi notório também que as catinonas produzem efeito máximo (máximo de toxicidade) a diferentes concentrações, sendo os limites máximos da ordem dos mM e oscilando entre 1,34 e 15,80 mM. Para as catinonas referidas anteriormente como possuindo maior toxicidade, a DMP (7) apresenta o menor limite máximo (1,45 mM) indicando que apresenta a resposta máxima para uma concentração mais baixa comparativamente às restantes, alcançando assim uma eficácia máxima a uma concentração menor. Quanto ao limite mínimo, que se refere à concentração abaixo da qual não são observados efeitos tóxicos, a DMB (6) apresenta um dos menores valores registados o que indica que esta catinona numa dose muito baixa, acima de 0,14 mM, pode começar a exibir toxicidade. Relativamente ao declive que se refere à inclinação da curva dose resposta e que corresponde à alteração no efeito por aumento da concentração de catinona, os valores obtidos foram muito variados, a catinona AFP (9) e a DMP (7) apresentaram um declive elevado de 11,730 e 8,729 respectivamente, indicando que com pequenas variações de concentração existe um eminente risco de toxicidade elevada destas catinonas.

Tendo em conta estes resultados e de acordo com o objetivo de estudar uma relação estrutura/citotoxicidade, as curvas dose-resposta foram analisadas em dois grupos de modo a avaliar, por um lado o efeito do aumento da cadeia e por outro o efeito da introdução de grupos metilo no anel aromático. Associado a estas comparações, o efeito do grupo amino também é analisado.

3.2.1.1 Efeito do Aumento da Cadeia

Para o estudo do efeito do aumento da cadeia três famílias de catinonas foram comparadas, nomeadamente catinonas com grupo dimetilamino (5, 6 e 7), dietilamino (9, 10 e 11) e catinonas com grupo etilamino (13, 14 e 15)

Para a família das catinonas com grupo dimetilamino são apresentadas as respetivas curvas dose-resposta na Figura 3.26. Destaca-se o composto de maior cadeia DMP (7) como sendo a catinona mais tóxica, dado o seu menor valor de EC_{50} de 1,087 mM, acompanhado de um acentuado declive de 8,729. Relativamente aos limites mínimo e máximo, a DMC (5), a menos tóxica, apresenta valores de limites maiores, enquanto que as catinonas DMB (6) e DMP (7) exibem toxicidade a partir de valores de concentração baixos, 0,14 mM e 0,95 mM, respetivamente. Estas duas catinonas apresentam também o máximo de toxicidade a baixas concentrações, a 1,45 mM para a DMB (6) e 2,08 mM para a DMP (7).

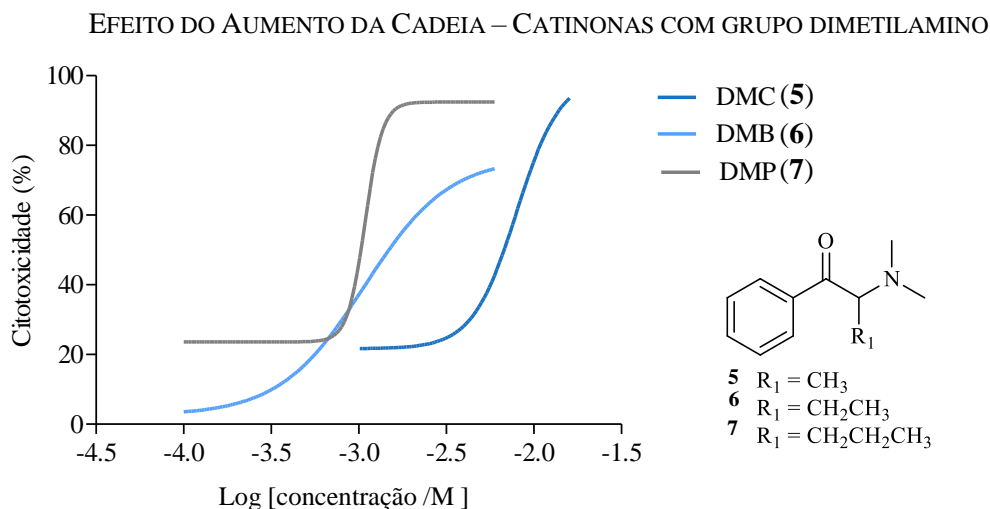


Figura 3.26 - Curvas-dose das células Hep G2 expostas aos compostos DMC (5), DMB (6) e DMP (7)

Para a família das catinonas com grupo dietilamino são apresentadas as respectivas curvas dose-resposta na Figura 3.27, onde se verifica que o composto de cadeia mais curta AFP (9) é a catinona que apresenta menor toxicidade ($EC_{50} = 6,623 \text{ mM}$), mas o seu acentuado declive (11,730) é um indicativo que alterações no aumento da concentração poderão ter consequências ao nível da mortalidade, sendo o máximo de toxicidade atingida de aproximadamente 7,19 mM. Enquanto que os compostos com cadeia maior DEB (10) e DEP (11) apresentam toxicidades mais elevadas de 1,816 e 1,494 mM, respetivamente e também um declive elevado de 5, revelando que a toxicidade aumenta com o aumento da cadeia.

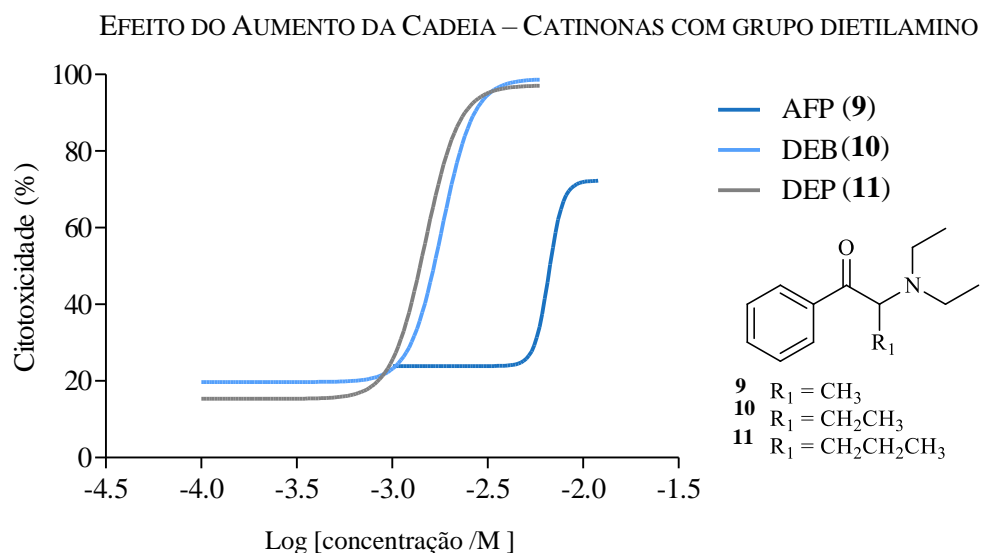


Figura 3.27 - Curvas-dose das células Hep G2 expostas aos compostos AFP (9), DEB (10) e DEP (11).

A Figura 3.28 apresenta as curvas dose-resposta da família das catinonas com o grupo etilamino, verifica-se com o aumento da cadeia alquilica da NEC (13), NEB (14) e NEP (15) que as curvas estão posicionadas mais à esquerda da figura, sugerindo que para a NEB (14) e NEP (15) a concentrações mais baixas a toxicidade é maior. Isto é notório nos valores de EC_{50} de 1,985, 1,235 e 1,526 mM respetivamente para a NEC (13), NEB (14) e NEP (15).

Por comparação, o declive da curva da NEP (15) (2,118) é inferior ao dos compostos NEC (13) (5,154) e NEB (14) (5,261), onde o comportamento das curvas é idêntico. Relativamente aos limites a NEP (15) começa a exibir toxicidade a uma concentração baixa (0,39 mM), e é a NEB (14) que atinge primeiramente o máximo de toxicidade a 1,34 mM.

EFEITO DO AUMENTO DA CADEIA – CATINONAS COM GRUPO ETILAMINO

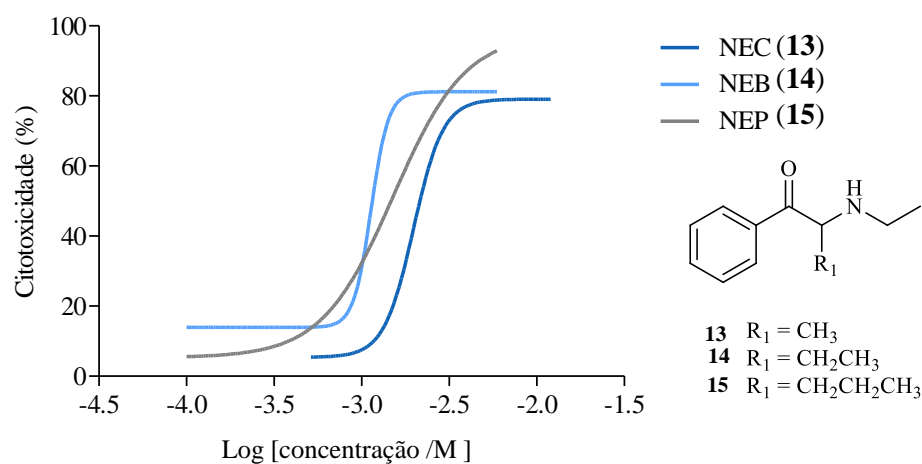


Figura 3.28 - Curva dose-resposta das células Hep G2 expostas aos compostos, NEC (**13**), NEB (**14**), NEP (**15**).

De uma forma geral, a comparação efectuada demonstrou que o aumento da cadeia alquílica poderá estar relacionado com o aumento da toxicidade das catinonas sintetizadas. Apesar de para a família das catinonas com o grupo etilamino, NEC (**13**), NEB (**14**) e NEP (**15**) não ser tão evidente que o aumento da cadeia provoca variações na toxicidade, nas outras famílias de catinonas com os grupos dietilamino e metilamino o aumento da cadeia provoca um decréscimo acentuado dos valores de EC_{50} e consequentemente aumento na toxicidade destes compostos.

Os resultados destes ensaios de citotoxicidade destas 3 famílias de catinonas (**5-7**, **9-10**, e **13-15**) foram comparados com resultados de antecedente investigação, nomeadamente catinonas com grupo etilamino (4-MEC), grupo metilamino (Metcatinona, Bufedrona, Pentedrona e Mefedrona) e grupo pirolidilo (α -PPP, α -PBP e α -PVP) ⁶¹. A Figura 3.29 apresenta uma comparação dos valores de EC_{50} em função do número de carbonos na cadeia alquílica. Os resultados das 8 catinonas sintetizadas e avaliadas biologicamente neste trabalho vão de encontro às conclusões previamente obtidas⁶¹, a toxicidade aumenta com o aumento da cadeia alquílica e consequentemente com a diminuição da polaridade.

Relativamente à comparação entre catinonas com mesma cadeia alquílica, mas diferente grupo amino, verifica-se que para as catinonas com cadeia alquílica de 3 carbonos (Metcatinona, DMC, NEC, AFP, α -PPP) a mais tóxica é a NEC (**13**) com grupo etilamino. Para as catinonas com 4 carbonos (Bufedrona, DMB, NEB, DEB, α -PBP) na cadeia alquílica, cujos EC_{50} variam numa entre 1 a aproximadamente 5 mM, a DMB (**6**) e a NEB (**14**) com grupo dimetilamino e etilamino, respetivamente, apresentam-se como sendo as mais tóxicas. Para estes casos, os grupos amino que parecem ter maior influência no aumento da toxicidade são os grupos dimetilamino e etilamino. No entanto, para as catinonas de cadeia alifática contendo 5 carbonos (Pentedrona, DMP, NEP, DEP, α -PVP) os valores de EC_{50} são os mais baixos e aproximadamente 2, sendo estas no geral mais tóxicas que as catinonas de menor cadeia e demonstrando que neste caso apesar de diferirem entre si na amina, esta não tem efeito significativo na variação da toxicidade.

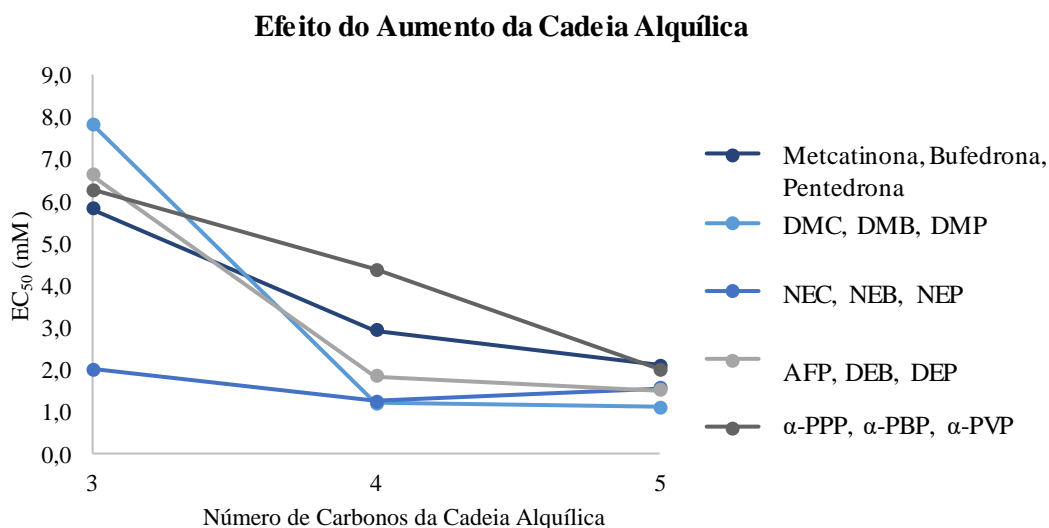


Figura 3.29 – Estudo do efeito do aumento da cadeia alquílica para as 5 famílias de catinonas estudadas.

3.2.1.2 Efeito da Substituição no Anel Aromático

Para além de se estudar o efeito do aumento da cadeia alquílica, também se estudou o efeito na citotoxicidade, associado à substituição de um hidrogénio por um grupo metilo na posição 4 do anel aromático. Na Figura 3.30 e na Figura 3.31 apresentam-se a comparação das curvas dose-resposta das catinonas sintetizadas com o grupo metil no anel e a sua respetiva catinona sem substituição no anel. Ficou evidente, neste caso que apresentaram maior toxicidade as catinonas substituídas com um grupo metilo 4-MAFP (12) e 4-MDMC (8) relativamente à AFP (9) e DMC (5), respetivamente.

EFEITO DO ANEL AROMÁTICO – CATINONAS COM GRUPO DIETILAMINO

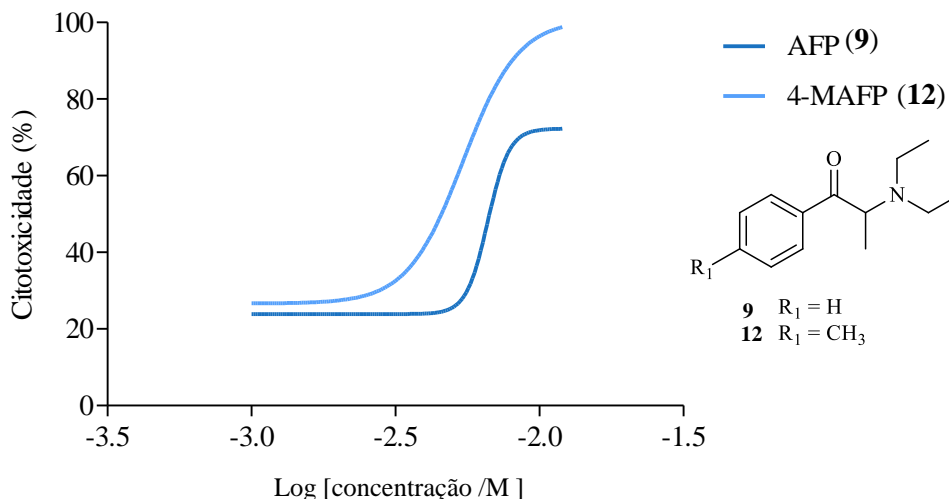


Figura 3.30 - Comparação da curvas-dose das células expostas aos compostos AFP (9) e 4-MAFP (12).

EFEITO DO ANEL AROMÁTICO – CATINONAS COM GRUPO DIMETILAMINO

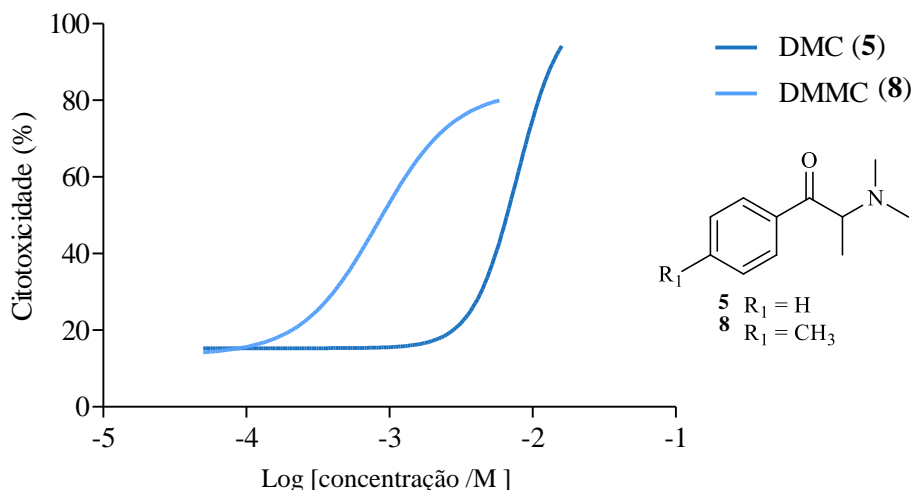


Figura 3.31 - Comparação da curvas-dose das células expostas aos compostos DMC (5) e 4-MDMC (8).

Tal como se verificou através das curvas dose-resposta os valores de EC₅₀ são menores quando se introduz um grupo metilo na catinona (Tabela 3.32), . Entre as catinonas DMC (5) e 4-MDMC (8) verifica-se uma drástica diminuição do valor de EC₅₀ bem como uma diminuição do limite mínimo a partir do qual se verificam efeitos tóxicos.

Adicionalmente os dados das catinonas NEC (**13**) e MPPP (**16**) (com um metilo em posição 4 no anel aromático), foram comparados com as catinonas 4-MEC e α -PPP respetivamente usando os resultados obtidos a partir da bibliografia ⁶¹. Na Figura 3.32 apresentam-se uma comparação dos 5 pares das catinonas pertencentes a 5 famílias diferentes contemplando a referida substituição de H por grupo metilo: Metcatinona/Mefedrona⁶¹, DMC (**5**)/4-MDMC (**8**), NEC (**13**)/4-MEC ⁶¹, AFP (**9**)/4-MAFP (**12**) e α -PPP⁶¹/MPPP (**16**). De uma forma geral, as catinonas com a substituição no anel aromático apresentam menor EC₅₀ e portanto maior toxicidade, sendo as catinonas 4-MAFP (**12**) e 4-MEC ⁶¹ as que apresentaram menor variação na toxicidade, e a MPPP (**16**), a mefedrona e 4-MDMC (**8**) onde foi registado maior aumento da citotoxicidade relativamente à catinona não substituída.

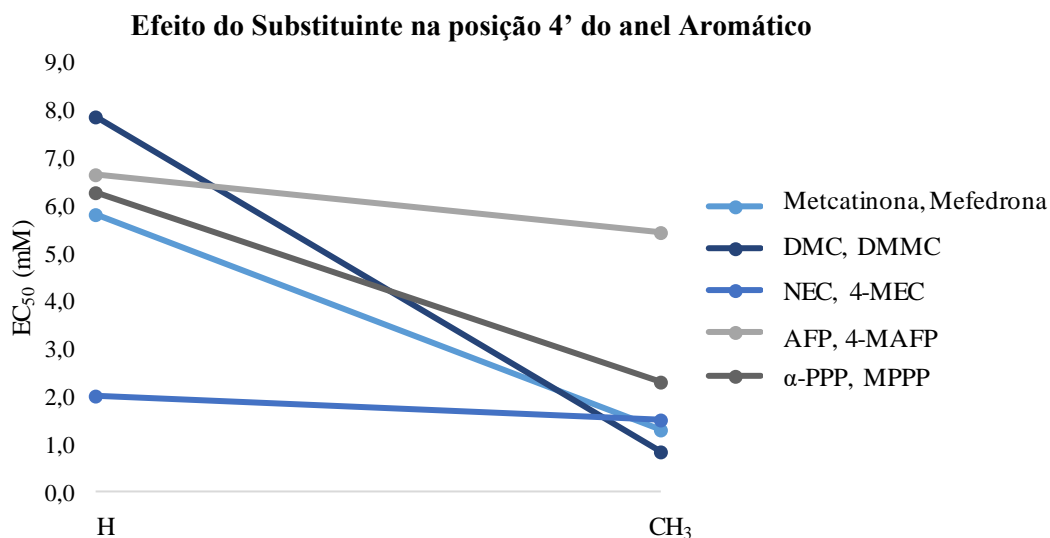


Figura 3.32 - Gráfico do efeito da substituição no anel aromático para as 5 famílias de catinonas estudadas, das quais foram sintetizadas neste trabalho a DMC, 4-MDMC, NEC, AFP, 4-MAFP e MPPP, as restantes são retiradas da bibliografia⁶¹.

Dado a variação na toxicidade que se associou pela substituição no anel aromático de um hidrogénio por um grupo metilo, avaliou-se ainda a toxicidade de uma catinona a 3,4-DMMC (**17**), proveniente de uma smartshop Portuguesa e que tem dois grupos metilos substituídos no anel aromático (Figura 3.33).

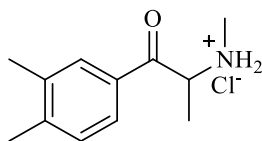


Figura 3.33 - Estrutura da 3,4-Dimetilmetcatinona (**17**).

A curva dose-resposta obtida para esta catinona apresenta-se na Figura 3.34 em comparação com as curvas das catinonas anteriores que sofreram alterações no anel aromático, nomeadamente a substituição por um grupo metilo na posição 4'. Desde logo é possível verificar que as catinonas que apresentam maior toxicidade são a 4-MDMC (**8**) e a 3,4-DMMC (**17**), verificando-se para a ultima um declive mais acentuado, exibindo maior potência.

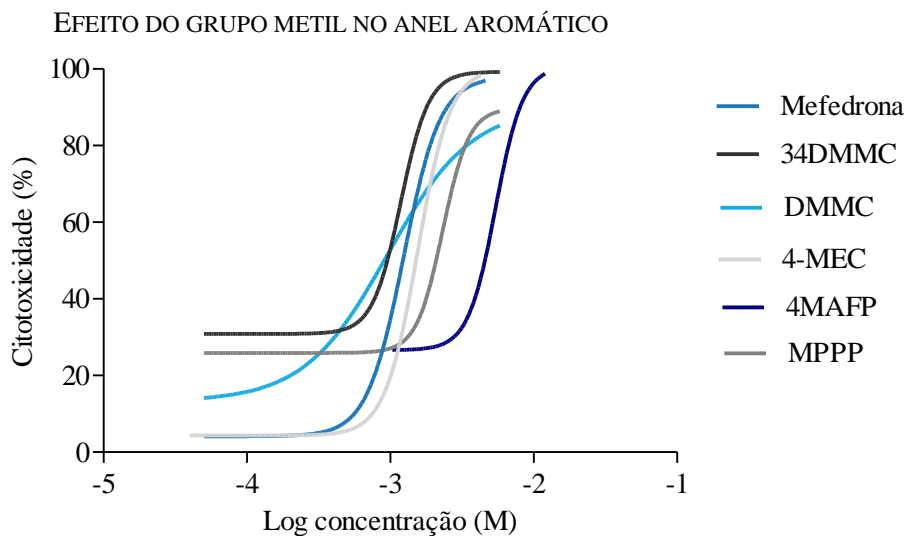


Figura 3.34 - Comparação da curvas-dose das células expostas aos compostos Mefedrona, 3,4-DMMC, 4-MDMC (8), 4-MEC, 4-MAFP (12), MPPP (16).

Tendo em conta todos os resultados anteriormente apresentados, a 3,4-DMMC apresenta toxicidade com um EC_{50} de 1,181 mM, sendo tão tóxica quando comparada com a 4-MDMC (8) (EC_{50} =0,814 mM). Mas por comparação dos declives, a 3,4-DMMC (17) terá mais risco de exibir maior toxicidade a pequenas variações de concentração.

Entre as catinonas da mesma família com grupo etilamino, apresentadas na Figura 3.35, verifica-se tal como referido anteriormente, que a catinona tem maior toxicidade quando um hidrogénio do anel é substituído por um CH_3 , mas uma segunda substituição não produz um aumento tão significativo da toxicidade.

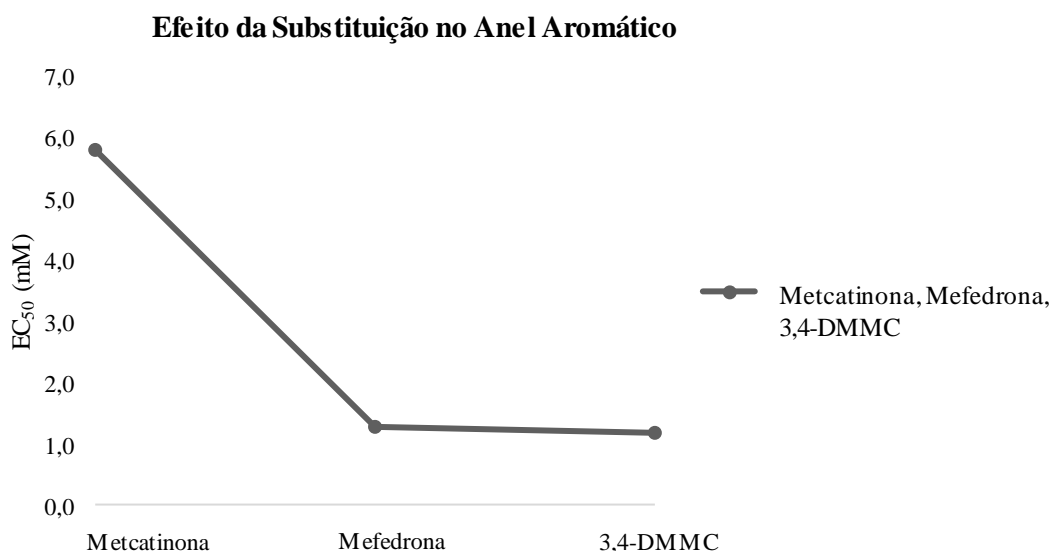


Figura 3.35 - Gráfico do efeito da substituição no anel aromático para a família das catinonas com o grupo metilamino.

Em suma, o aumento da cadeia alquílica traduz-se em valores de EC_{50} mais baixos, ou seja a toxicidade é maior. Pelo que as catinonas com 5 carbonos na cadeia alquílica apresentam-se como as mais tóxicas. Relativamente ao anel aromático, a toxicidade aumenta com a introdução de um grupo metilo na posição 4' do anel aromático. Apesar de este efeito apenas ter sido estudado nas catinonas com cadeia alquílica de três carbonos, esta parece ser a substituição

mais favorável ao aumento da toxicidade, pois obteve-se as catinonas mais tóxicas, a 4-MDMC (**8**) e a 3,4-DMMC (**17**). Estas catinonas revelaram-se mais tóxicas do que as já conhecidas⁶¹, o que permitiu complementar os estudos de relação estrutura/actividade, anteriormente iniciados. Em relação ao grupo amino não se verifica um padrão da toxicidade com o tipo de amina, mas verificou-se que catinonas com grupo etilamino a baixas concentrações já se sente o efeito da sua toxicidade e catinonas com grupo dimetilamino, à exceção de uma (DMC (**5**)) apresentaram com valores de EC₅₀ mais baixos.

3.3 Identificação da *N*-etilpentilona numa amostra de um produto apreendido em Portugal

No âmbito do protocolo entre a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e o Laboratório de Polícia Científica da Polícia Judiciária foi entregue uma amostra apreendida em Portugal para análise de RMN, uma vez que não tinha sido possível a sua identificação por GC-MS. Para se determinar a sua estrutura foram efetuadas um conjunto de experiências de RMN em DMSO. Os espectros são apresentados do Anexo 7.68 ao Anexo 7.72.

Da análise do espectro de protão obtido verificou-se que a amostra deveria ser uma catinona devido às semelhanças encontradas com o espectro da NEP (**15**) em DMSO, tal como se pode observar na Figura 3.36. Esta catinona deverá ter na sua estrutura uma amina secundária, devido a presença dos dois singletos alargado na zona dos N-H (9,06 e 9,68 ppm). Os restantes sinais são semelhantes aos da NEP excepto os da zona aromática. O número de sinais nesta zona e sua integração indica que a catinona apreendida tem substituições no anel aromático. Os três sinais desta zona têm integração 1, ao contrário do que acontece na NEP (**15**), uma catinona sem substituições no anel, cujos 3 sinais integram na totalidade para 5. A existência de mais um sinal na catinona apreendida, a 6,19 ppm e com integração 2, leva à possibilidade de existir no anel um grupo metilénico muito desblindado CH₂. O valor deste sinal é compatível com a existência do grupo metilenodioxilo.

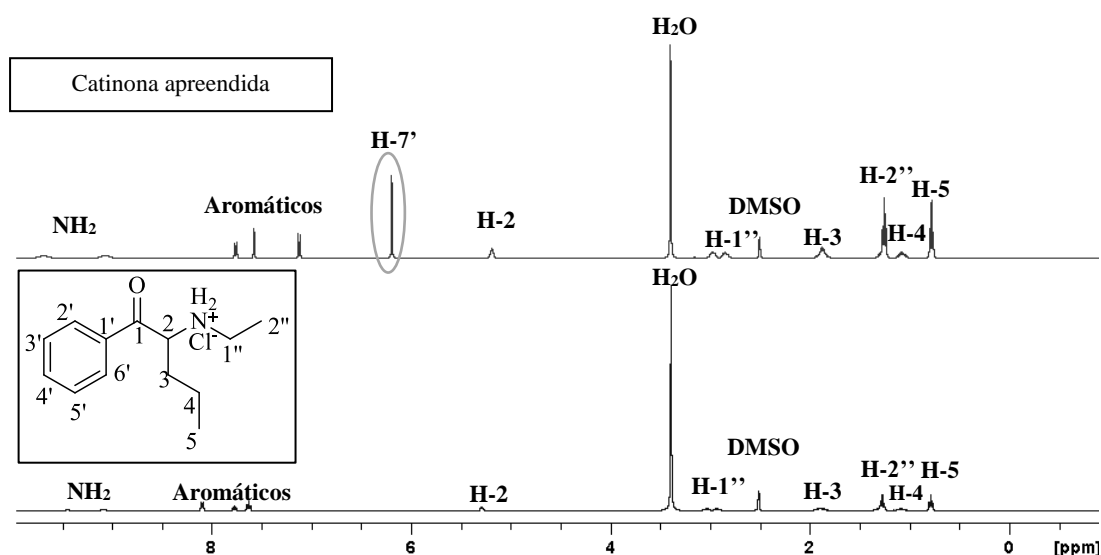


Figura 3.36 - Comparação dos espectros de RMN 1H da NEP (**15**) e da catinona apreendida.

Este grupo deverá estar nas posições C-3' e C-4' uma vez que na zona aromática, temos dois dupletos com integração 1 e um singletto alargado. Se a substituição fosse em C-2' e C-3' a multiplicidade dos sinais seria diferente (dois dupletos e um triplete). Deste modo é expectável que o composto seja a *N*-etilpentilona (**18**) Figura 3.37.

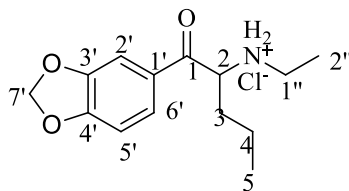


Figura 3.37 - Identificação da estrutura da catinona apreendida, *N*-etilpentilona (**18**).

A *N*-etilpentilona foi reportada pela primeira vez em 2017, nos Estados Unidos, durante um caso de estudo de uma fatalidade causada por esta catinona sintética³⁶. Uma pesquisa bibliográfica sobre esta catinona permitiu encontrar a sua caracterização por GC-MS e RMN em D₂O⁷⁸.

Para confirmação da estrutura e atribuição correta dos sinais de próton e carbono foram realizadas experiências 1D e 2D de RMN, os dados obtidos apresentam-se na Tabela 3.33 e na Tabela 3.34. As correlações de HMBC foram cruciais para confirmar a substituição do anel nas posições C-3' e C-4' e fazer as atribuições dos carbonos quaternários, dada a correlação com os prótons H-2' e H-5'.

Tabela 3.33 - Dados de RMN ¹H e COSY para a catinona apreendida, em DMSO.

Atribuição	δ _H	Integração	Multiplicidade	J (Hz)	COSY
H-2	5,18	1H	m	-	1,87
H-3	1,87	2H	m	-	5,18; 1,24; 1,07
H-4	1,07	1H	m	-	1,87; 0,77
H-5	0,77	3H	t	7,26	1,04
H-2'	7,57	1H	d	1,28	-
H-5'	7,12	1H	d	8,20	-
H-6'	7,75	1H	dd	1,28 8,20	7,12
NH	9,68 9,06	2H	sl	-	-
H-1''	2,96 2,85	2H	m	-	2,96; 1,24 2,85; 1,24
H-2''	1,24	3H	t	7,20	2,96; 2,85

Tabela 3.34 - Dados de RMN ¹³C 1D e 2D para a catinona apreendida, em DMSO.

Atribuição	δ _C	HSQC	HMBC
C-1	194,66 (-)	-	7,75; 7,57; 1,87
C-2	60,48 (+)	5,18	1,87
C-3	32,56 (-)	1,87	0,77
C-4	17,66 (-)	1,07	0,77
C-5	14,16 (+)	0,77	1,88
C-1'	153,31 (-)	-	7,75; 7,57; 7,12; 6,19
C-2'	108,29 (+)	7,57	7,75
C-3' ^a	129,06 (-)	-	7,57; 7,12
C-4' ^a	148,69 (-)	-	7,12
C-5'	108,99 (+)	7,12	-
C-6'	126,35 (+)	7,75	7,57
C-7'	102,99 (-)	6,19	-
C-1''	41,55 (-)	2,96; 2,85	1,24
C-2''	11,55 (+)	1,24	-

^a As atribuições ao par de sinais a poderão estar trocadas.

4-PARTE EXPERIMENTAL

4 Parte Experimental

4.1 Equipamento

Para a realização das pesagens, recorreu-se a uma balança digital Precisa XT 120A ($\pm 0,001$ g). As reações foram controladas por cromatografia em camada fina (TLC), com placas de sílica gel em alumínio, 60 F₂₅₄ da Merck e as manchas foram observadas através de uma luz ultravioleta (254 nm). Os espectros de RMN de ¹H, ¹³C, foram obtidos num espectrofotómetro Bruker 400 Ultrashield, com uma frequência de 400,13 e 100,61 MHz, respetivamente. O tratamento dos espectros obtidos foi efetuado recorrendo ao software existente da Bruker (Topspin). As análises por GC-MS foram realizadas pelo Laboratório de Polícia Científica, num cromatógrafo gasoso (Agilent® GC System 6890 Series), acoplado a um espectrómetro de massa (Agilent® 5973 Network), com uma coluna HP-5MS (30m \times 0.25mm \times 0,25 μ m) e o software ChemStation permitiu a aquisição e processamento dos espectros. As análises por HR-MS-ESI foram realizadas pelo Laboratório de Espectrometria de Massa do IST, num espectrómetro de massa QqTOF Impact IITM mass spectrometer (Bruker Daltonics) operando no modo de alta resolução e o software Data Analysis 4.2 permitiu o processamento dos resultados.

Para o manuseamento da linha celular Hep G2 utilizou-se uma câmara de fluxo laminar (Class II biohazard safety cabinet) ESCO, uma incubadora Sanyo onde as células foram mantidas, um hematócitometro (Marienfeld Improved Double Neubauer, prof.: 0,100 mm; 0,0025 mm²), um microscópio Matic AE21 e um leitor de microplacas Tecan Sunrise Remote A-502. Os tratamentos de resultados dos testes de viabilidade celular foram executados com recurso ao software GraphPad Prism 5.

4.2 Reagentes e Solventes

Os reagentes foram obtidos comercialmente, na Sigma Aldrich e utilizados sem prévia purificação, exceto a pirrolidina (p.e. 70 °C), que foi destilada. Os solventes, utilizados nas sínteses, foram adquiridos na Sigma Aldrich e Honeywell, sendo utilizados diretamente, à exceção do diclorometano, usado na preparação das bromocetonas, que foi previamente seco por destilação. O ácido clorídrico (HCl) e o hidróxido de potássio (NaOH), utilizado para as soluções do “work-up”, foram obtidos na Sigma Aldrich e na Merck, respetivamente. Para as caracterizações por RMN os solventes utilizados foram clorofórmio deuterado (CDCl₃) ou/e dimetilsulfóxido (DMSO) obtidos na Sigma Aldrich. Na Merck obteve-se cloreto de sódio (NaCl), dihidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄), na Panreac o hidrogenofosfato de potássio (Na₂HPO₄) e na Fluka o cloreto de potássio (KCl).

Relativamente às células, a linha celular Hep G2 (ATCC HB-8065) foi obtida a partir da ATCC. O meio utilizado para a cultura de células DMEM (Dulbecco's modified eagle's medium) com 4,5 g/L de glucose, a Penicilina-Streptomicina (Pen-Strep), a L-glutamina (200 mM) e a tripsina 10x foram adquiridos na Lonza. O soro fetal bovino (FBS) inativado pelo calor foi proveniente da Biowest. O azul tripano 0,4 % e o Dodecilo sulfato de sódio (SDS) foram obtidos na Sigma Aldrich e o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) na VWR.

4.3 Sínteses

A síntese das catinonas consiste num processo de dois passos, sendo o primeiro a formação da α -bromocetona, que é seguidamente utilizado, sem nenhum tipo de purificação prévia, na formação da catinona, que é depois obtida na forma de sal, tal como apresentado na Figura 3.1.

4.3.1 Síntese das α -Bromocetonas

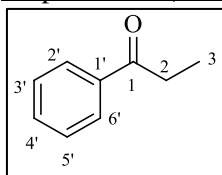
A uma solução da cetona pretendida em diclorometano seco, na proporção de 100 mL para 50 mL de solvente, sob agitação, adicionou-se uma gota de ácido bromídrico (48% solução aquosa) e uma gota de bromo molecular puro. De forma a obter-se a bromocetona pretendida libertou-se gota a gota o bromo molecular puro, contido numa ampola isobárica, entre adições teve-se o cuidado de esperar pelo o desvanecimento da cor laranja (característica do bromo). As reações das bromocetonas foram controladas por TLC, utilizando como eluente uma mistura de benzeno e hexano 1:1. Tendo em conta a dificuldade em controlar o bromo molecular, ao longo da reação gotas do mesmo eram adicionadas, de forma a que a reação fosse total. O produto foi seco com sulfato de magnésio e concentrado sob vácuo. Obteve-se por fim um óleo para os compostos **1**, **2** e **3** e um sólido para o composto **4**, com cores a variar entre tons de amarelo, laranja e castanho e os rendimentos variaram entre 78 e 93 %. Na Tabela 4.1 apresentam-se as quantidades utilizadas e obtidas, assim como o tempo das reações e rendimentos de cada bromocetona.

Tabela 4.1 - Resumo das condições e quantidades de reagentes e de produto para as sínteses das bromocetonas.

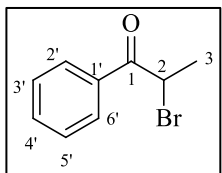
Cetona (g; mol)	Bromocetona (g; mol)	Tempo de reação	Rendimento
Propiofenona (5,000; 0,037)	2-bromopropiofenona (1) (7,008; 0,033)	1,5 h	88 %
Butirofenona (2,886; 0,019)	2-bromobutirofenona (2) (3,491; 0,015)	2 h	78 %
Valerofenona (7,500; 0,046)	2-bromovalerofenona (3) (10,177; 0,042)	1,5 h	92 %
4'-metilpropiofenona (5,000; 0,033)	4'-metil-2-bromopropiofenona (4) (6,972; 0,031)	4,5 h	93 %

4.3.1.1 Caracterização das Cetonas e Bromocetonas

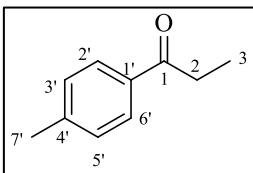
Propiofenona (1-fenilpropan-1-ona): RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 7,95 (d, 8,56 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,54 (t, 7,38 Hz, 1H, H-4'); 7,44 (t, 7,54 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 2,99 (q, 7,24 Hz, 2H, H-2); 1,22 (t, 7,24 Hz, 3H, H-3)



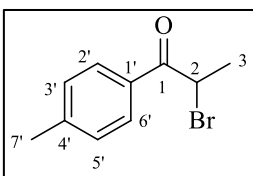
2-Bromopropiofenona (2-bromo-1-fenilpropan-1-ona): Óleo alaranjado. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 8,03 (d, 6,64 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,59 (t, 6,63 Hz, 1H, H-4'); 7,49 (t, 7,66 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,30 (q, 7,32 Hz, 1H, H-2); 1,90 (d, 7,28 Hz, 3H, H-3)



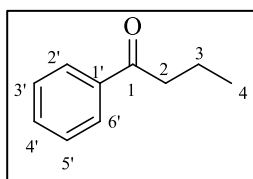
4'-Metilpropiofenona (1-(4-Metilfenil)propan-1-ona): RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 7,85 (d, 8,16 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,23 (t, 8,00 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 2,96 (q, 7,24 Hz, 2H, H-2); 2,39 (s, 3H, H-7'); 1,20 (t, 7,24 Hz, 3H, H-3)



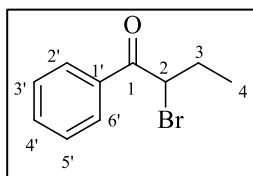
4'-Metil-2-bromopropiofenona (2-Bromo-1-(4-metilfenil)propan-1-ona): Sólido amarelo. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 7,93 (d, 8,16 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,29 (d, 8,08 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,28 (q, 6,62 Hz, 1H, H-2); 2,13 (s, 3H, H-4'); 1,89 (d, 6,64 Hz, 3H, H-3)



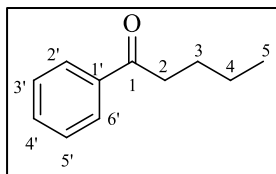
Butirofenona (1-Fenilbutan-1-ona): RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 7,95 (d, 8,48 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,53 (t, 7,34 Hz, 1H, H-4'); 7,51 (t, 7,52 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 2,93 (t, 7,28 Hz, 2H, H-2); 1,76 (sext, 7,40 Hz, 2H, H-3); 0,99 (t, 7,42 Hz, 3H, H-4)



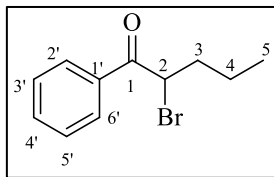
2-Bromobutirofenona (2-Bromo-1-fenilbutan-1-ona): Óleo alaranjado escuro. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 8,02 (d, 7,20 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,59 (t, 7,38 Hz, 1H, H-4'); 7,49 (t, 7,66 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,08 (t, 4,71 Hz, 1H, H-2); 2,19 (m, 2H, H-3); 1,08 (d, 7,32 Hz, 3H, H-4)



Valerofenona (1-Fenilpentan-1-ona): RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 7,95 (d, 7,20 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,53 (t, 7,36 Hz, 1H, H-4'); 7,43 (t, 7,50 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 2,95 (t, 7,42 Hz, 2H, H-2); 1,71 (quin, 7,51 Hz, 2H, H-3); 1,40 (sext, 7,48 Hz, 2H, H-4); 0,94 (t, 7,36 Hz, 3H, H-5)



2-Bromovalerofenona (2-Bromo-1-fenilpentan-1-ona): Óleo amarelo. RMN ^1H (CDCl_3 , 400



MHz), δ (ppm):

8,02 (d, 7,28 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,60 (t, 7,38 Hz, 1H, H-4'); 7,49 (t, 7,64 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,15 (t, 7,14 Hz, 1H, H-2); 2,14 (m, 2H, H-3); 1,51 (m, 2H, H-4); 0,98 (t, 7,38 Hz, 3H, H-5)

4.3.2 Síntese das Catinonas

As sínteses das catinonas basearam-se em três métodos diferentes, de acordo com a solução comercial da amina adquirida, apenas o *work-up* é sempre igual. De seguida descreve-se de uma forma geral os três métodos, e a que catinonas foram aplicados.

Para a síntese da NEC (**13**) a etilamina encontrava-se sob a forma de hidrocloreto sólido, pelo que o método aplicado teve em conta as proporções descritas de 1:1:2 de amina, bromocetona e trietilamina, descrito por *Camilleri et al*⁷⁹. De acordo com a referida proporção de 4,4 mmol de etilamina para 50 mL de diclorometano, foram dissolvidas 0,759 g (0,009 mol) de hidrocloreto de etilamina em 106 mL de diclorometano. De seguida adicionou-se, sob agitação, 2,6 mL (1,923 g; 0,019 mol) de trietilamina. A esta solução foi adicionada lentamente uma solução de 1,4 mL (2,0 g; 0,009 mol) de bromopropiofenona em 63 mL de diclorometano, preparada como descrito numa proporção de 4,4 mmol de bromocetona para 30 mL de diclorometano. A reação teve uma duração de cerca de 25 horas e foi controlada por TLC, tendo-se utilizado uma mistura de hexano e acetato de etilo 6:4, como eluente. No final da reação procedeu-se ao *work-up* ácido, que consistiu na adição de HCl (6M) até se atingir um pH de 1 e extraiu-se a primeira fase orgânica. À fase aquosa adicionou-se diclorometano e extraiu-se uma segunda fase orgânica, seguidamente, adicionou-se uma solução aquosa de NaOH (5M) até se obter um pH de 10 e extraiu-se, com diclorometano, uma terceira fase orgânica. As três fases orgânicas foram secas com sulfato de magnésio e após terem sido concentradas sob vácuo, adicionou-se HCl etéreo (3M) em cada fase, preparado como descrito em 4.3.3. O ácido clorídrico etéreo foi adicionado até deixar de se ver a formação de um precipitado branco. A formação do precipitado ocorreu na primeira e terceira fase orgânica extraída, este foi posteriormente lavado com acetona e éter. Por fim obteve-se um pó branco com 0,698 g (0,003mmol; η =35 %) de produto. sob agitação, à qual se adicionou o dobro de trietilamina.

Um segundo método foi aplicado para as sínteses cujas aminas se apresentavam numa solução de 2M em THF, nomeadamente DMC (**5**), DMB (**6**), DMP (**7**), 4-MDMC (**8**), NEB (**14**) e NEP (**15**). Este método baseado em *McDermont et al*⁶⁴ tem em conta uma proporção de 3,4 mmol de bromocetona em 14,0 mmol de amina em THF e o prévio arrefecimento dos compostos num banho de gelo. Após arrefecimento, sob agitação, foi adicionado gota-a-gota a bromocetona à amina. A mistura reacional permaneceu no banho de gelo durante 2 horas, até que se permitiu o arrefecimento à temperatura ambiente. As reações foram controladas por TLC, tendo-se utilizado uma mistura de hexano e acetato de etilo 6:4, como eluente. Apesar da indicação da proporção bromocetona/amina em THF descrita, verificou-se a necessidade de ao longo do tempo de reação se adicionar entre 2 a 4 equivalentes extra, para que reagisse o máximo possível. No fim da reação a mistura reacional foi concentrada sob vácuo e o *work-up* foi igual para todas as sínteses.

Por fim, o terceiro método baseado em *Hyde et al*⁸⁰, aplicou-se para as sínteses da AFP (**9**), DEB (**10**), DEP (**11**), 4-MAFP (**12**) e MPPP (**16**). De acordo com o descrito na bibliografia, preparou-se uma solução de 50 % da amina em diclorometano e teve-se em contra uma proporção de 1 mol de bromocetona para 2 mol de amina. Tal como o método anterior, os reagentes são colocados num banho de gelo. De seguida é adicionado lentamente, sob agitação, a bromocetona

à solução de amina em diclorometano. Após adição, o banho de gelo foi retirado e a reação mantida a temperatura ambiente, o tempo de duração da reação dependeu do controle efetuado por TLC, que teve como eluente uma mistura de hexano e acetato de etilo 6:4. No fim da reação a mistura reacional foi concentrada sob vácuo e o *work-up* foi igual para todas as sínteses.

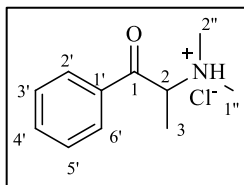
Todos os compostos obtidos nas sínteses acima descritas foram purificados com uma mistura de acetona/éter. Na Tabela 4.2 apresentam-se as quantidades de reagentes e produtos, referentes a cada catinona, assim como os rendimentos e tempos de reação.

Tabela 4.2 - Resumo das condições e quantidades de reagentes e de produto para as sínteses das doze catinonas.

Bromocetona (g; mol)	Amina (g; mol)	Catinona (g; mol)	Tempo de reação	Rendimento (%)
2-bromopropiofenona (2,000; 0,009)	Etilamina (0,759; 0,009)	NEC (13) (0,698; 0,003)	25 h	35 %
2-bromobutirofenona (1,099; 0,005)	Etilamina (0,891; 0,020)	NEB (14) (0,275; 0,001)	4 h	25 %
2-bromovalerofenona (1,062; 0,004)	Etilamina (0,816; 0,018)	NEP (15) (0,688; 0,003)	21 h	65 %
2-bromopropiofenona (1,000; 0,005)	Dietilamina (0,673; 0,009)	AFP (9) (0,270; 0,001)	20 h	24 %
4'-metil-2-bromopropiofenona (2,000; 0,009)	Dietilamina (1,294; 0,018)	4-MAFP (12) (0,448; 0,002)	25 h	20 %
2-bromobutirofenona (1,000; 0,004)	Dietilamina (0,643; 0,008)	DEB (10) (0,195; 0,0007)	4 h	17 %
2-bromovalerofenona (0,999; 0,004)	Dietilamina (0,606; 0,008)	DEP (11) (0,755; 0,003)	24 h	63 %
2-bromopropiofenona (1,000; 0,005)	Dimetilamina (1,744; 0,039)	DMC (5) (0,478; 0,002)	18 h	49 %
4'-metil-2-bromopropiofenona (2,016; 0,008)	Dimetilamina (1,652; 0,036)	4-MDMC (8) (1,010; 0,004)	50 h	50 %
2-bromobutirofenona (1,041; 0,004)	Dimetilamina (1,699; 0,038)	DMB (6) (0,782; 0,003)	42 h	75 %
2-bromovalerofenona (1,020; 0,004)	Dimetilamina (0,779; 0,017)	DMP (7) (0,353; 0,001)	91 h	36 %
4'-metil-2-bromopropiofenona (2,000; 0,009)	Pirrolidina (1,258; 0,017)	MPPP (16) (1,640; 0,006)	20 h	73 %

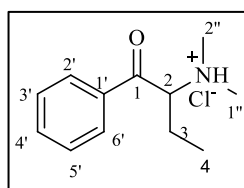
4.3.2.1 Caracterização das Catinonas Sintetizadas

N,N-Dimetilcatinona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(dimetilamino)-1-fenil-propan-1-ona) (5): Pó



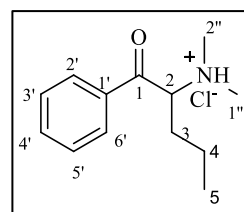
branco (0,270 g; η =24 %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 7,50 min. HR-MS-ESI: 178,1226. RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm): 12,54 (sl, 1H, N-H); 7,96 (d, 7,48 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,66 (t, 7,40 Hz, 1H, H-4'); 7,52 (t, 7,68 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,33 (q, 6,75 Hz; 1H, H-2); 3,10 (d, 3,64 Hz, 3H, H-1''); 2,96 (d, 3,52 Hz, 3H, H-2''); 1,75 (d, 7,24 Hz, 3H, H-3); RMN C_{13} ($CDCl_3$, 100 MHz), δ (ppm): 195,67 (C-1); 134,98 (C-4'); 133,69 (C-1'); 129,29 (C-3'/C-5'); 128,61 (C-2'/C-6'); 62,40 (C-2); 42,25 (C-2''); 37,82 (C-1''); 15,63 (C-3)

N,N-Dimetilbufedrona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(dimetilamino)-1-fenil-butan-1-ona) (6): Pó



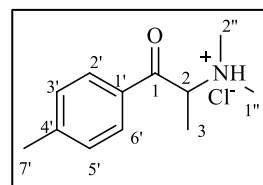
branco (0,782 g; η =75 %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 8,24 min. HR-MS-ESI: 192,1383. RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm): 12,41 (sl, 1H, N-H); 8,02 (d, 7,68 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,69 (t, 7,38 Hz, 1H, H-4'); 7,55 (t, 7,64 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,21 (s, 1H, H-2); 3,07 (d, 4,84 Hz, 3H, H-1''); 2,87 (d, 4,72 Hz, 3H, H-2''); 2,26 (quin, 6,68 Hz, 1H, H-3); 2,08 (q, 7,19 Hz, 1H, H-3); 1,03 (t, 7,46 Hz, 3H, H-4); RMN C_{13} ($CDCl_3$, 100 MHz), δ (ppm): 196,28 (C-1); 135,68 (C-1'); 135,23 (C-4'); 129,41 (C-3'/C-5'); 128,67 (C-2'/C-6'); 65,62 (C-2); 42,80 (C-2''); 38,22 (C-1''); 23,42 (C-3); 10,57 (C-4)

N,N-Dimetilpentedrona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(dimetilamino)-1-fenil-pentan-1-ona) (7): Pó



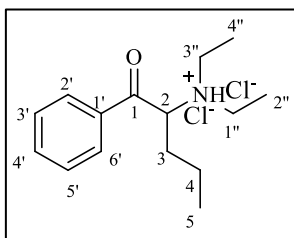
branco (0,353 g; η =36 %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 9,13 min. HR-MS-ESI: 206,1539. RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm): 11,48 (sl, 1H, N-H); 8,03 (d, 7,56 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,70 (t, 7,40 Hz, 1H, H-4'); 7,56 (t, 7,68 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,32 (s, 1H, H-2); 3,08 (d, 4,96 Hz, 3H, H-1''); 2,91 (d, 4,92 Hz, 3H, H-2''); 2,17 (m, 1H, H-3); 1,99 (m, 1H, H-3); 1,49 (m, 1H, H-4); 1,35 (m, 1H, H-4); 0,92 (t, 7,26 Hz, 3H, H-5); RMN C_{13} ($CDCl_3$, 100 MHz), δ (ppm): 195,98 (C-1); 135,35 (C-1'); 135,31 (C-4'); 129,47 (C-3'/C-5'); 128,75 (C-2'/C-6'); 64,91 (C-2); 42,82 (C-2''); 38,84 (C-1''); 31,97 (C-3); 19,27 (C-4); 13,93 (C-5)

N,N-4-metildimetcatinona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(dimetilamino)-1-(4-metilfenil)-propan-1-ona) (8): Pó creme (1,104 g; η =50 %) recristalizado com acetona/éter.



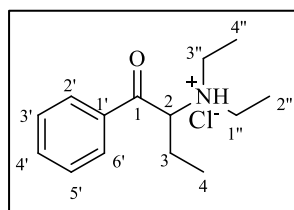
Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 9,78 min. HR-MS-ESI: 192,1383. RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm): 12,54 (sl, 1H, N-H); 7,84 (d, 8,20 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,32 (d, 8,04 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,20 (dd, 3,40 Hz; 1H, H-2); 3,10 (d, 5,00 Hz; 3H, H-1''); 2,93 (d, 4,92 Hz, 3H, H-2''); 2,42 (s, 3H, H-7'); 1,75 (d, 7,24 Hz, 3H, H-3); RMN C_{13} ($CDCl_3$, 100 MHz), δ (ppm): 195,10 (C-1); 146,46 (C-4'); 131,20 (C-1'); 130,00 (C-3'/C-5'); 128,70 (C-2'/C-6'); 62,12 (C-2); 42,33 (C-2''); 37,62 (C-1''); 21,78 (C-7'); 15,82 (C-3)

Anfepramona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(dietilamino)-1-fenil-propan-1-ona) (9): Pó branco (0,270

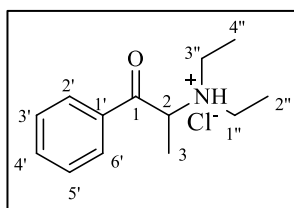


g; $\eta=24$ %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. GC-MS 8,93 min. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 12,14 (sl, 1H, N-H); 7,94 (d, 7,80 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,67 (t, 7,40 Hz, 1H, H-4'); 7,53 (t, 7,66 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,27 (qd, 7,80 Hz; 1H, H-2); 3,62 (m, 2H, H-1''); 3,50 (m, 1H, H-3''); 3,18 (m, 1H, H-3''); 1,84 (d, 7,20, 3H, H-3); 1,56 (t, 7,38, 3H, H-2''); 1,44 (t, 7,30, 3H, H-4''); RMN C_{13} (CDCl_3 , 100 MHz), δ (ppm): 195,40 (C-1); 135,03 (C-4'); 133,41 (C-1'); 129,40 (C-3'/C-5'); 128,43 (C-2'/C-6'); 59,70 (C-2); 47,62 (C-3''); 45,59 (C-1''); 15,71 (C-3); 11,79 (C-2''); 10,35 (C-4'')

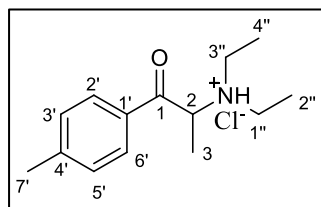
N,N-Dietilbufedrona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(dietilamino)-1-fenil-butan-1-ona) (10): Pó branco



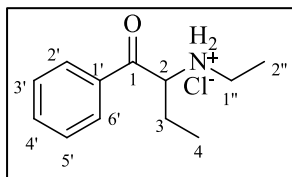
(0,195 g; $\eta=17$ %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 9,52 min. HR-MS-ESI: 220,1696. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 11,15 (sl, 1H, N-H); 7,99 (d, 7,60 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,71 (t, 7,34 Hz, 1H, H-4'); 7,56 (t, 7,22 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,15 (m, 1H, H-2); 3,76 (m, 1H, H-1''); 3,52 (m, 1H, H-1''); 3,39 (m, 1H, H-3''); 3,12 (m, 1H, H-3''); 2,51 (m, 1H, H-3); 2,08 (m, 1H, H-3); 1,59 (t, 7,40 Hz, 3H, H-2''); 1,46 (t, 7,28 Hz, 3H, H-4''); 1,02 (t, 7,46 Hz, 3H, H-4); RMN C_{13} (CDCl_3 , 100 MHz), δ (ppm): 196,50 (C-1); 135,50 (C-1'); 135,30 (C-4'); 129,46 (C-3'/C-5'); 128,61 (C-2'/C-6'); 63,70 (C-2); 48,02 (C-3''); 45,95 (C-1''); 23,57 (C-3); 11,64 (C-2''); 11,18 (C-4); 10,16 (C-4'')



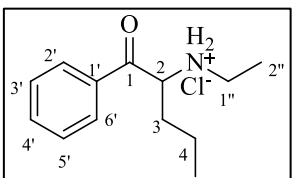
N,N-Dietilpentedrona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(dietilamino)-1-fenil-pentan-1-ona) (11): Pó branco (0,755 g; $\eta=63$ %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 10,31 min. HR-MS-ESI: 234,1852. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 11,16 (sl, 1H, N-H); 7,97 (d, 7,44 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,70 (t, 7,44 Hz, 1H, H-4'); 7,55 (t, 7,80 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,19 (m, 1H, H-2); 3,77 (m, 1H, H-1''); 3,51 (m, 1H, H-1''); 3,37 (m, 1H, H-3''); 3,10 (m, 1H, H-3''); 2,39 (m, 1H, H-3); 1,95 (m, 1H, H-3); 1,59 (t, 7,42 Hz, 3H, H-2''); 1,52 (m, 1H, H-4); 1,45 (t, 7,30 Hz, 3H, H-4''); 1,24 (m, 1H, H-4); 0,91 (t, 7,26 Hz, 3H, H-5); RMN C_{13} (CDCl_3 , 100 MHz), δ (ppm): 196,03 (C-1); 135,40 (C-1'); 135,29 (C-4'); 129,47 (C-3'/C-5'); 128,56 (C-2'/C-6'); 62,39 (C-2); 48,10 (C-3''); 45,84 (C-1''); 32,11 (C-3); 20,05 (C-4); 14,03 (C-5); 11,66 (C-2''); 10,17 (C-4'')



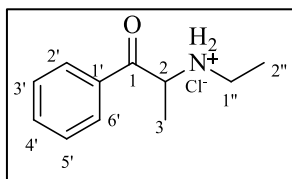
N,N-4'-Metilanfepramona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(dietilamino)-1-(4'-metilfenil)-propan-1-ona) (12): Pó creme (0,448 g; $\eta=20$ %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 10,13 min. HR-MS-ESI: 220,1696. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 11,34 (sl, 1H, N-H); 7,84 (d, 8,08 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,33 (d, 7,88 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,26 (m, 1H, H-2); 3,63 (m, 3H, H-1''); 3,51 (m, 1H, H-3''); 3,20 (m, 1H, H-3''); 2,44 (s, 1H, H-7'); 1,85 (d, 7,08, 3H, H-3); 1,58 (t, 7,36, 3H, H-2''); 1,46 (t, 7,22, 3H, H-4''); RMN C_{13} (CDCl_3 , 100 MHz), δ (ppm): 194,66 (C-1); 146,56 (C-1'); 130,77 (C-4'); 130,10 (C-3'/C-5'); 128,61 (C-2'/C-6'); 59,80 (C-2); 47,76 (C-3''); 45,83 (C-1''); 21,79 (C-7'); 15,85 (C-3); 11,82 (C-2''); 10,31 (C-4'')



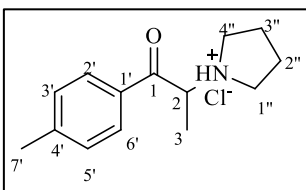
N-Etilcatinona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(etilamino)-1-fenil-propan-1-ona) (13): Pó branco (0,698 g; $\eta=35$ %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 7,71 min. HR-MS-ESI: 178,1226. RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm): 10,50 (sl, 1H, N-H); 9,19 (sl, 1H, N-H); 7,97 (d, 7,60 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,64 (t, 7,36 Hz, 1H, H-4'); 7,50 (t, 7,60 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,08 (m, 1H, H-2); 3,19 (m, 2H, H-1''); 1,81 (d, 6,96 Hz, 3H, H-3); 1,53 (t, 7,10 Hz, 3H, H-2''); RMN C_{13} ($CDCl_3$, 100 MHz), δ (ppm): 194,79 (C-1); 134,70 (C-4'); 132,91 (C-1'); 129,18 (C-3'/C-5'); 128,85 (C-2'/C-6'); 57,95 (C-2); 41,98 (C-1''); 16,52 (C-3); 11,75 (C-2'')



N-Etilbufedrona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(etilamino)-1-fenil-butan-1-ona) (14): Pó branco (0,275 g; $\eta=25$ %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 8,45 min. HR-MS-ESI: 193,1373. RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm): 10,28 (sl, 1H, N-H); 8,52 (sl, 1H, N-H); 8,02 (d, 7,28 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,67 (t, 7,24 Hz, 1H, H-4'); 7,53 (t, 7,20 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,19 (m, 1H, H-2); 3,32 (s, 1H, H-1''); 3,13 (s, 1H, H-1''); 2,46 (m, 1H, H-3); 2,26 (m, 1H, H-3); 1,56 (m, 3H, H-2''); 0,98 (t, 6,84 Hz, 3H, H-4); RMN C_{13} ($CDCl_3$, 100 MHz), δ (ppm): 194,82 (C-1); 134,96 (C-4'); 133,79 (C-1'); 129,27 (C-3'/C-5'); 128,88 (C-2'/C-6'); 62,51 (C-2); 42,92 (C-1''); 24,01 (C-3); 11,78 (C-2''); 9,15 (C-4)



N-Etilpentedrona (Hidrocloreto de (R,S)-2-(etilamino)-1-fenil-pentan-1-ona) (15): Pó branco (0,688 g; $\eta=65$ %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 9,31 min. HR-MS-ESI: 206,1539. RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm): 10,19 (sl, 1H, N-H); 8,52 (sl, 1H, N-H); 8,02 (d, 7,64 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,67 (t, 7,32 Hz, 1H, H-4'); 7,54 (t, 7,50 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,19 (m, 1H, H-2); 3,32 (s, 1H, H-1''); 3,11 (s, 1H, H-1''); 2,31 (m, 1H, H-3); 2,17 (m, 1H, H-3); 1,56 (t, 6,82, 3H, H-2''); 1,31 (m, 1H, H-4); 0,85 (t, 7,14 Hz, 3H, H-4); RMN C_{13} ($CDCl_3$, 100 MHz), δ (ppm): 195,97 (C-1); 134,97 (C-4'); 133,81 (C-1'); 129,27 (C-3'/C-5'); 128,87 (C-2'/C-6'); 61,74 (C-2); 42,92 (C-1''); 32,68 (C-3); 18,24 (C-4); 13,81 (C-5); 11,76 (C-2'')



4'-Metil-α-pirrolidinopropiofenona (Hidrocloreto de (R,S)-1-(4-metilfenil)-(pirrolidina-1-il)propan-1-ona) (16): Pó creme (1,640 g; $\eta=73$ %) recristalizado com acetona/éter. Pureza estimada por GC-MS numa solução metanólica (1 mg/mL): 100 %. T_R 11,38 min. HR-MS-ESI: 218,1539. RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm): 11,68 (sl, 1H, N-H); 7,83 (d, 8,00 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 7,31 (d, 7,80 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 5,33 (m, 1H, H-2); 3,82 (m, 1H, H-1''); 3,70 (m, 1H, H-4''); 3,62 (m, 1H, H-4''); 3,12 (m, 1H, H-1''); 2,43 (s, 1H, H-7'); 2,21 (m, 4H, H-2''/H-3''); 1,80 (d, 6,76, 3H, H-3); RMN C_{13} ($CDCl_3$, 100 MHz), δ (ppm): 194,83 (C-1); 146,40 (C-4'); 130,93 (C-1'); 130,00 (C-3'/C-5'); 128,78 (C-2'/C-6'); 61,26 (C-2); 52,59 (C-1''); 50,00 (C-4''); 24,32 (C-2''); 24,09 (C-2''); 16,66 (C-3)

4.3.3 Síntese de Ácido Clorídrico Etéreo (3M)

Após a devida montagem de um sistema fechado (Figura 4.1), o ácido clorídrico etéreo foi obtido pela adição gota-a-gota de ácido sulfúrico a 96 % (36,80 mL; 375 mmol) sobre cloreto de sódio (43,83 g; 750 mmol), previamente seco na estufa a 250 °C durante a noite, levando à formação do ácido clorídrico que borbulhou no éter etílico (250 mL; 750 mmol) durante cerca de 3 horas, até à sua estabilização.



Figura 4.1 - Montagem para a síntese de ácido clorídrico etéreo.

4.4 Ensaios de Citotoxicidade

4.4.1 Cultura de Células

As células foram cultivadas em frascos de 25 cm² (T25), usando DMEM suplementado com 10 % SFB, 1 % de glicina e 1 % de uma solução antibiótica (pen-strep). As células foram mantidas na incubadora, num ambiente húmido contendo 5 % de CO₂ e 95 % de ar atmosférico a 37 °C. A cada 2-3 dias o meio das células era renovado, quando se atingia uma confluência de cerca de 80 % estas eram tripsinizadas e divididas para um máximo de três frascos T25, de forma a crescerem uniformemente.

4.4.2 Contagem das Células

Após tripsinização as células foram colocadas num falcon com 5 mL de DMEM suplementado. À suspensão preparada retirou-se 100 µL e diluiu-se em 100 µL de uma solução de azul tripiano (0,4 %), desta solução uma gota foi retirada e colocada na lamela, procedendo-se à contagem das células, num hemacitómetro ao microscópio ótico, com base na permeabilidade da membrana celular quando exposta ao azul tripiano. As células viáveis excluem o referido corante orgânico azul, como resultado da manutenção do potencial de membrana, enquanto que as células danificadas são permeáveis ao corante, tomando uma tonalidade escura. Com base no número médio de células viáveis obtido, a suspensão foi diluída adicionando o volume de meio pretendido para cultivar uma ou mais microplacas de 96 poços. Cada microplaca foi cultivada com cerca de 30 000 células mL⁻¹ e incubada durante 72 horas.

4.4.3 Determinação da Viabilidade Celular

Após o tempo de incubação das células e verificada a confluência, o meio foi retirado e foi aplicada em contacto com as células soluções de concentração variável dos compostos dissolvidos em meio de cultura DMEM suplementado com 100 U/mL de penicilina, 100 U/mL de estreptomicina e 2 mM de L-glutamina. Como controlo negativo correspondente a 100 % de viabilidade as células foram submetidas a condições idênticas somente em meio de cultura DMEM e como controlo positivo correspondente a 0 % viabilidade/100 % toxicidade utilizou-se uma solução de SDS (0,1 %) em meio de cultura. Foram ainda aplicados como controlo duas catinonas ilegais, mefedrona e 4-MEC. As microplacas foram incubadas nas mesmas condições durante 24 horas. No mínimo foram efetuados 8 replicados de cada concentração. Na Figura 4.2 mostra-se um exemplo de um ensaio preliminar.

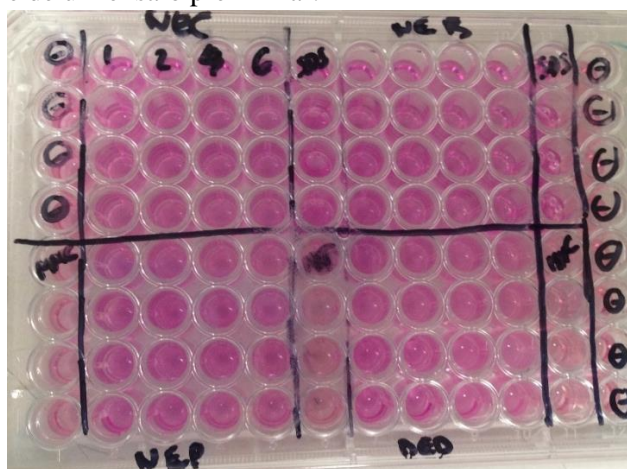


Figura 4.2 - Exemplo da estrutura de uma microplaca preliminar, na qual se aplicaram os compostos NEC (13), NEB (14), NEP (15) e DEB (10).

Após a incubação para se avaliar a viabilidade celular foi realizado um ensaio de MTT. O meio de cultura contendo os compostos foi retirado, as células foram lavadas com uma solução salina de PBS 1x. Incubou-se durante 2,5 horas 100 µL por poço de uma solução de MTT 1 mg/mL, em meio DMEM suplementado com 100 U/mL de penicilina, 100 U/mL de estreptomicina e 2 mM de L-glutamina. O MTT foi retirado e os cristais de formazan obtidos dissolvidos com 100 µL metanol (Figura 4.3). Registou-se a absorvência a 595 nm e 630 nm num leitor de microplacas Tecan Sunrise™ e os resultados são apresentados com curvas dose-resposta.

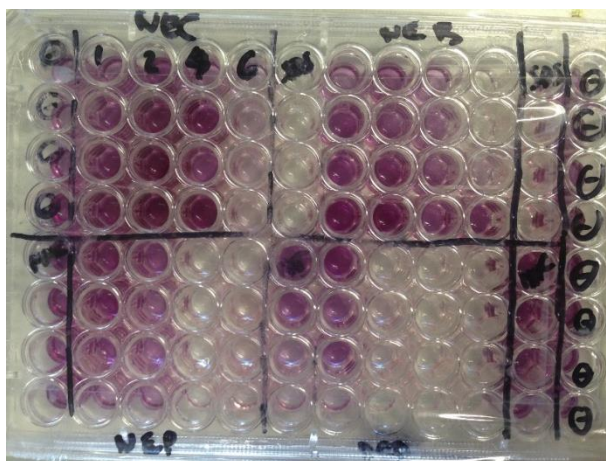


Figura 4.3 - Exemplo de uma microplaca após dissolução do formazan com metanol.

4.4.3.1 Análise de Dados

A viabilidade foi calculada tendo em conta o controlo negativo (células expostas apenas ao meio de cultura), no qual a viabilidade celular é de 100 %, ao contrário do controlo positivo (células expostas a SDS) que corresponde a 0 % de viabilidade. Como demonstrado na Figura 4.4, obteve-se a viabilidade celular para cada poço da microplaca.

$$\text{Viabilidade Celular (\%)} = \frac{\text{Absorvância poço}}{\text{Média Absorvância Controlo negativo}} \times 100$$

Figura 4.4 - Equação para o cálculo da viabilidade celular.

Os dados obtidos foram então analisados pelo software GraphPAD Prism 5, tendo em conta um modelo de regressão não linear. Para cada catinona traçou-se uma curva dose-resposta e o correspondente a 50 % de viabilidade celular (EC₅₀) foi determinado.

5-CONCLUSÃO

5 Conclusão e Perspectivas Futuras

Em conclusão, foram caracterizadas por RMN, GC-MS e HR-MS-ESI, as 12 catinonas sintetizadas com sucesso, por três métodos de acordo com os materiais de partida. Os tempos de reação e as quantidades dos reagentes utilizados, foram adaptados para cada catinona por forma a otimizar as sínteses. Tendo-se obtido 195 mg a 1,640 g de cada composto, com rendimentos que variaram entre 17 – 75 %, e com uma pureza de 100 % após recristalizações. Os ensaios de viabilidade celular nas 13 catinonas testadas em linhas celulares do hepatocarcinoma humano Hep G2 mostraram que 5 compostos (DMB (6), DMP (7), 4-MDMC (8), NEB (14) e 3,4-DMMC (17)) apresentam valores de EC_{50} entre 0,81 – 1,18 mM, inferiores aos das catinonas tidas como referência, mefedrona (1,28 mM) e 4-MEC (1,51 mM), os restantes compostos (DMC (5), AFP (9), DEB (10), DEP (11), 4-MAFP (12), NEC (13), NEP (14) e MPPP (16)) apresentaram valores superiores (EC_{50} entre 1,49 mM a 7,83 mM). Sendo a catinona 4-MDMC (8) a mais tóxica e a DMC (5) menos tóxica.

A comparação da toxicidade das 13 catinonas avaliadas neste trabalho juntamente com 8 catinonas testadas anteriormente permitiu demonstrar uma relação entre a estrutura e actividade hepatotóxica. As 21 catinonas foram organizadas em 5 famílias de acordo com o grupo amino presente na sua estrutura (metilamino, etilamino, pirrolidiloo, dimetilamino e dietilamino). Em cada família, foi possível concluir que existe um aumento da toxicidade com o aumento da cadeia alquílica, constatando-se que as catinonas com cadeias de 5 carbonos exibem maior toxicidade que as de menor cadeia. Adicionalmente, a toxicidade exibida também foi maior para catinonas com a presença de um grupo metilo na posição 4' do anel aromático em comparação com as catinonas não substituídas nesta posição. Tendo sido drástico este aumento no caso do par DMC (5)/4-MDMC (8). Quanto ao efeito do tipo de grupo amino, parece não haver uma relação evidente entre este grupo e a respectiva toxicidade. No entanto, verificou-se que as catinonas com o grupo dimetilamino na sua estrutura apresentaram valores de EC_{50} mais baixos, que se traduz em maior toxicidade.

Tendo em conta que o aumento da cadeia alquílica nas catinonas contribuiu para o aumento da sua hepatotoxicidade, este fenómeno pode dever-se à diminuição da polaridade dos compostos, que facilita a passagem das catinonas através das membranas celulares beneficiando deste modo o seu efeito tóxico.

É de salientar, que neste trabalho foi possível identificar por RMN a *N*-etilpentilona, pela primeira vez num produto apreendido em Portugal.

Dado que estão sempre a surgir no mercado novas catinonas, este trabalho foi um importante contributo para uma construção de uma base de dados analíticos que contenha, não só, informação analítica de compostos a circular, mas também, informação de novos compostos que poderão surgir brevemente no mercado. Para além disso, é também fundamental, não só, determinar a toxicidade de compostos a circular no mercado, mas também, prever a toxicidade de compostos que possam aparecer no mercado, desta forma foi um importante ter-se efetuado um estudo que relaciona a estrutura das catinonas com a sua hepatotoxicidade.

Como perspectivas futura seria interessante realizar-se outro tipo de estudos biológicos, como por exemplo: determinar e estudar a toxicidade dos metabolitos das catinonas; analisar a capacidade da absorção destes compostos pelas barreiras gastrointestinal e hematoencefálica antecipando deste modo a sua capacidade, ao ser consumida, de atingir e ter efeito sobre o sistema nervoso central.

6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 Referências Bibliográficas

- (1) Babor, T.; Campbell, R.; Room, R.; Saunders, J. *Lexicon of Alcohol and Drug Terms*; 1994.
- (2) UNODC. *World Drug Report 2016*; Vienna, 2016.
- (3) UNODC. *World Drug Report 2015*; Vienna, 2015; Vol. 53.
- (4) EMCDDA. *European Drug Report: Trends and Developments*; Luxembourg, 2016.
- (5) EMCDDA. *Portugal Country Drug Report 2017*; Lisbon, 2017.
- (6) Houck, M. M. *Forensic Chemistry - Advanced Forensic Science Series*; Advanced Forensic Science Series; Elsevier Science, 2015.
- (7) UNODC. UNODC Early Warning Advisory (EWA) on New Psychoactive Substances (NPS) <https://www.unodc.org/LSS/Home/NPS> (accessed Aug 18, 2017).
- (8) Português, G. *Decreto-Lei N.º 54/2013*; Diário da República: Portugal.
- (9) Group, R. of a W. *Review of the Pharmacology of Khat*; 1980.
- (10) Kalix, P. Cathinone, a Natural Amphetamine. *Pharmacol. Toxicol.* **1992**, 70, 77–86.
- (11) Hoffman, R.; Al’Absi, M. Khat Use and Neurobehavioral Functions: Suggestions for Future Studies. *J. Ethnopharmacol* **2011**, 132 (3), 554–563.
- (12) Toennes, S. W.; Harder, S.; Schramm, M.; Niess, C.; Kauert, G. F. Pharmacokinetics of Cathinone, Cathine and Norephedrine after the Chewing of Khat Leaves. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2003**, 56 (1), 125–130.
- (13) Kalix, P. Catha Edulis, a Plant That Has Amphetamine Effects. *Pharm. World Sci.* **1996**, 18 (2), 69–73.
- (14) Widler, P.; Mathys, K.; Brenneisen, R.; Kalix, P.; Fisch, H. U. Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Khat: A Controlled Study. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1994**, 55 (5), 556–562.
- (15) Feyissa, A. M.; Kelly, J. P. A Review of the Neuropharmacological Properties of Khat. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* **2008**, 32 (5), 1147–1166.
- (16) UNODC. *The Challenge of New Psychoactive Substances*; Vienna, 2013.
- (17) Kelly, J. P. Cathinone Derivatives: A Review of Their Chemistry, Pharmacology and Toxicology. *Drug Test. Anal.* **2011**, 3 (7–8), 439–453.
- (18) Fahmi, A.; Abdullah, L.; Haw, K.; Kumar, S. A Review on Synthetic Cathinone and Its Derivatives : Prevalence and Syntheses. *Malaysian J. Forensic Sci.* **2014**, 5 (2), 46–52.
- (19) UNODC. *World Drug Report 2017*; Vienna, 2017.
- (20) EMCDDA. *Report on the Risk Assessment of Mephedrone in the Framework of the Council Decision on New Psychoactive Substances*; 2010.
- (21) Prosser, J. M.; Nelson, L. S. The Toxicology of Bath Salts: A Review of Synthetic Cathinones. *J. Med. Toxicol.* **2012**, 8 (1), 33–42.
- (22) Coppola, M.; Mondola, R. Synthetic Cathinones: Chemistry, Pharmacology and Toxicology of a New Class of Designer Drugs of Abuse Marketed as “ Bath Salts” or “ Plant Food.” *Toxicol. Lett.* **2012**, 211 (2), 144–149.
- (23) Klavž, J.; Gorenjak, M.; Marinšek, M. Suicide Attempt with a Mix of Synthetic Cannabinoids and Synthetic Cathinones: Case Report of Non-Fatal Intoxication with AB-CHMINACA, AB-FUBINACA, Alpha-PHP, Alpha-PVP and 4-CMC. *Forensic Sci. Int.*

2016, 265, 121–124.

- (24) Rosenbaum, C. D.; Carreiro, S. P.; Babu, K. M. Here Today, Gone Tomorrow...and Back Again? A Review of Herbal Marijuana Alternatives (K2, Spice), Synthetic Cathinones (Bath Salts), Kratom, Salvia Divinorum, Methoxetamine, and Piperazines. *J. Med. Toxicol.* **2012**, 8 (1), 15–32.
- (25) Nagai, H.; Saka, K.; Nakajima, M.; Maeda, H.; Kuroda, R.; Igarashi, A.; Tsujimura-Ito, T.; Nara, A.; Komori, M.; Yoshida, K. I. Sudden Death after Sustained Restraint Following Self-Administration of the Designer Drug α -Pyrrolidinovalerophenone. *Int. J. Cardiol.* **2014**, 172 (1), 263–265.
- (26) Liveri, K.; Constantinou, M. A.; Afxentiou, M.; Kanari, P. A Fatal Intoxication Related to MDPV and Pentedrone Combined with Antipsychotic and Antidepressant Substances in Cyprus. *Forensic Sci. Int.* **2016**, 265, 160–165.
- (27) Golan, D. E.; Tashjian, A. H.; Armstrong, E. J. *Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy*; Monographs in population biology; Wolters Kluwer Health, 2011.
- (28) Collins, M. Some New Psychoactive Substances: Precursor Chemicals and Synthesis-Driven End-Products. *Drug Test. Anal.* **2011**, 3 (7–8), 404–416.
- (29) Kaye, A. D.; Kaye, A. M.; Urman, R. D. *Essentials of Pharmacology for Anesthesia, Pain Medicine, and Critical Care*; Springer New York, 2014.
- (30) Simmler, L. D.; Liechti, M. E. Interactions of Cathinone NPS with Human Transporters and Receptors in Transfected Cells. In *Brain Imaging in Behavioral Neuroscience*; 2016; pp 49–72.
- (31) Silverman, R. B. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*; 1992; Vol. 27.
- (32) Fujita, Y.; Koeda, A.; Fujino, Y.; Onodera, M.; Kikuchi, S.; Niitsu, H.; Iwasaki, Y.; Usui, K.; Inoue, Y. Clinical and Toxicological Findings of Acute Intoxication with Synthetic Cannabinoids and Cathinones. *Acute Med. Surg.* **2016**, 3 (3), 230–236.
- (33) Zaitsu, K.; Katagi, M.; Tsuchihashi, H.; Ishii, A. Recently Abused Synthetic Cathinones, Alpha-Pyrrolidinophenone Derivatives: A Review of Their Pharmacology, Acute Toxicity, and Metabolism. *Forensic Toxicol.* **2014**, 32 (1), 1–8.
- (34) Zawilska, J. B.; Wojcieszak, J. Designer Cathinones — An Emerging Class of Novel Recreational Drugs. **2013**, 231, 42–53.
- (35) Valente, M. J.; Araújo, A. M.; Bastos, M. de L.; Fernandes, E.; Carvalho, F.; Guedes de Pinho, P.; Carvalho, M. *Characterization of Hepatotoxicity Mechanisms Triggered by Designer Cathinone Drugs (Alpha-Keto Amphetamines)*; 2016; Vol. 153.
- (36) Thirakul, P.; S. Hair, L.; L. Bergen, K.; M. Pearson, J. Clinical Presentation, Autopsy Results and Toxicology Findings in an Acute N -Ethylpentylone Fatality. *J. Anal. Toxicol.* **2017**, 41 (4), 342–346.
- (37) Brandon, E. F. A.; Raap, C. D.; Meijerman, I.; Beijnen, J. H.; Schellens, J. H. M. An Update on in Vitro Test Methods in Human Hepatic Drug Biotransformation Research: Pros and Cons. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2003**, 189 (3), 233–246.
- (38) Anzenbacher, P.; Anzenbacherová, E. Cytochromes P450 and Metabolism of Xenobiotics. *Cell. Mol. Life Sci.* **2001**, 58 (5), 737–747.
- (39) Luethi, D.; Liechti, M. E.; Krähenbühl, S. Mechanisms of Hepatocellular Toxicity Associated with New Psychoactive Synthetic Cathinones. *Toxicology* **2017**.
- (40) Negreira, N.; Erratico, C.; Kosjek, T.; van Nuijs, A. L. N.; Heath, E.; Neels, H.; Covaci, A. In Vitro Phase I and Phase II Metabolism of α -Pyrrolidinovalerophenone (α -PVP), Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) and Methedrone by Human Liver Microsomes and

- Human Liver Cytosol. *Anal. Bioanal. Chem.* **2015**, 407 (19), 5803–5816.
- (41) Valente, M. J.; Araújo, A. M.; Bastos, M. de L.; Fernandes, E.; Carvalho, F.; Guedes de Pinho, P.; Carvalho, M. Characterization of Hepatotoxicity Mechanisms Triggered by Designer Cathinone Drugs (Beta-Keto Amphetamines). *Toxicol. Sci.* **2016**, 153 (1), 89–102.
 - (42) Springer, D.; Paul, L. D.; Staack, R. F.; Kraemer, T.; Maurer, H. H. Identification of Cytochrome P450 Enzymes Involved in the Metabolism of 4'-Methyl- α -Pyrrolidinopropiophenone, a Novel Scheduled Designer Drug, in Human Liver Microsomes. *Drug Metab. Dispos.* **2003**, 31 (8), 979–982.
 - (43) Bjornsson, E. Hepatotoxicity by Drugs: The Most Common Implicated Agents. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, 17 (2), 224.
 - (44) Matsunaga, T.; Morikawa, Y.; Tanigawa, M.; Kamata, K.; Shibata, A.; Sasajima, Y.; Suenami, K.; Sato, K.; Takekoshi, Y.; Endo, S.; et al. Structure-Activity Relationship for Toxicity of α -Pyrrolidinophenones in Human Aortic Endothelial Cells. *Forensic Toxicol.* **2017**, 35 (2), 309–316.
 - (45) Guillouzo, A.; Corlu, A.; Aninat, C.; Glaise, D.; Morel, F.; Guguen-Guillouzo, C. The Human Hepatoma HepaRG Cells: A Highly Differentiated Model for Studies of Liver Metabolism and Toxicity of Xenobiotics. *Chem. Biol. Interact.* **2007**, 168 (1), 66–73.
 - (46) Bader, A. Hepg2 With Regard To Their Biotransformation Properties. **2003**, 31 (8), 1035–1042.
 - (47) Maurer, H. H.; Kraemer, T.; Springer, D.; Staack, R. F. Metabolism of Designer Drugs of the Amphetamine. **2004**, 26 (2), 127–131.
 - (48) ATCC. Hep G2 [HEPG2] (ATCC® HB-8065™) https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/HB-8065.aspx?geo_country=ro#characteristics (accessed Sep 24, 2017).
 - (49) Bahuguna, A.; Khan, I.; Bajpai, V. K.; Kang, S. C. MTT Assay to Evaluate the Cytotoxic Potential of a Drug. *Bangladesh J. Pharmacol.* **2017**, 12 (2), 8.
 - (50) Berridge, M.; Tan, A.; McCoy, K.; Wang, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays That Use Tetrazolium Salts. *Biochemica* **1996**, No. 4, 4–9.
 - (51) Weyermann, J.; Lochmann, D.; Zimmer, A. A Practical Note on the Use of Cytotoxicity Assays. *Int. J. Pharm.* **2005**, 288 (2), 369–376.
 - (52) Mosmann, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65 (1–2), 55–63.
 - (53) Sittampalam, G.; Coussens, N.; Arkin, M.; Auld, D.; Austin, C.; Bejcek, B.; Glicksman, M.; Inglese, J.; Iversen, P.; McGee, J.; et al. *Assay Guidance Manual*; 2016.
 - (54) Berridge, Michael V., Tan, A. S. Characterization of the Cellular Reduction of 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT): Subcellular Localization, Substrate Dependence and Involvement of Mitochondrial Electron Transport in MTT Reduction. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1993, pp 474–482.
 - (55) Marshall, N. J.; Goodwin, C. J.; Holt, S. J. A Critical Assessment of the Use of Microculture Tetrazolium Assays to Measure Cell Growth and Function. *Growth Regul.* **1995**, 5 (2), 69–84.
 - (56) Motulsky, H.; Christopoulos, A. *Fitting Models to Biological Data Using Linear and Nonlinear Regression: A Practical Guide to Curve Fitting*; Oxford University Press: New York, 2004.
 - (57) Matsunaga, T.; Morikawa, Y.; Kamata, K.; Shibata, A.; Miyazono, H.; Sasajima, Y.; Suenami, K.; Sato, K.; Takekoshi, Y.; Endo, S.; et al. α -Pyrrolidinononanophenone

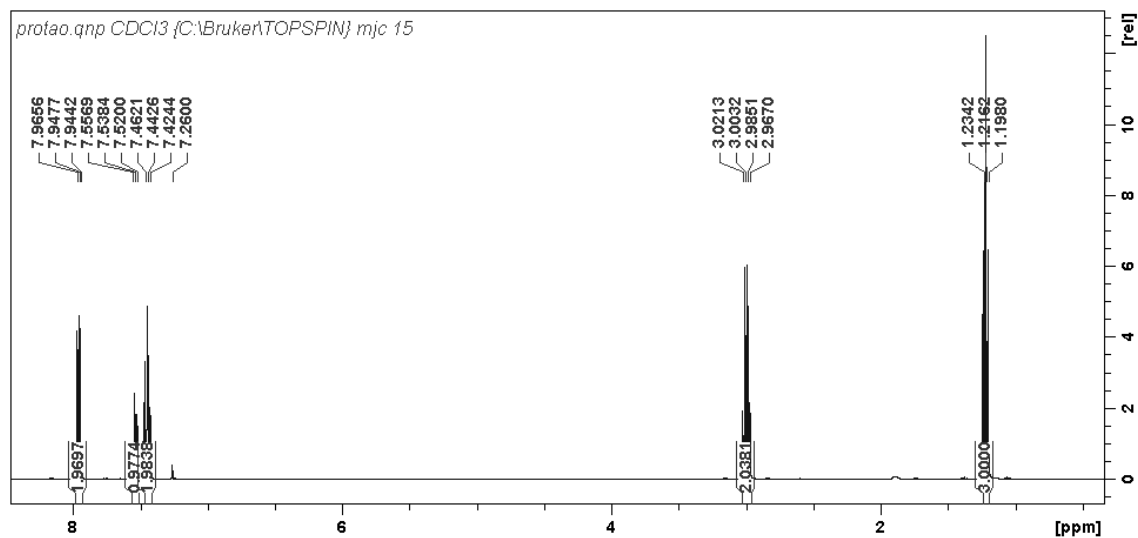
- Provokes Apoptosis of Neuronal Cells through Alterations in Antioxidant Properties. *Toxicology* **2017**, 386 (Supplement C), 93–102.
- (58) Luethi, D.; Liechti, M. E.; Krähenbühl, S. Mechanisms of Hepatocellular Toxicity Associated with New Psychoactive Synthetic Cathinones. *Toxicology* **2017**, 387 (Supplement C), 57–66.
 - (59) Griffiths, P.; Lopez, D.; Sedefov, R.; Gallegos, A.; Hughes, B.; Noor, A.; Royuela, L. Khat Use and Monitoring Drug Use in Europe: The Current Situation and Issues for the Future. *J. Ethnopharmacol.* **2010**, 132 (3), 578–583.
 - (60) Wood, D. M.; Davies, S.; Puchnarewicz, M.; Button, J.; Archer, R.; Ovaska, H.; Ramsey, J.; Lee, T.; Holt, D. W.; Dargan, P. I. Recreational Use of Mephedrone (4-Methylmethcathinone, 4-MMC) with Associated Sympathomimetic Toxicity. *J. Med. Toxicol.* **2010**, 6 (3), 327–330.
 - (61) Bronze, S. Síntese E Avaliação Biológica de Catinonas Psicoativas, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 2016.
 - (62) Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Badertscher, M. *Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data*; SpringerLink: Springer e-Books; Springer Berlin Heidelberg, 2009.
 - (63) Reitzel, L. A.; Dalsgaard, P. W.; Müller, I. B.; Cornett, C. Identification of Ten New Designer Drugs by GC-MS, UPLC-QTOF-MS, and NMR as Part of a Police Investigation of a Danish Internet Company. *Drug Test. Anal.* **2012**, 4 (5), 342–354.
 - (64) McDermott, S. D.; Power, J. D.; Kavanagh, P.; O'Brien, J. The Analysis of Substituted Cathinones. Part 2: An Investigation into the Phenylacetone Based Isomers of 4-Methylmethcathinone and N-Ethylcathinone. *Forensic Sci. Int.* **2011**, 212 (1–3), 13–21.
 - (65) Sternhell, S. Rotation about Single Bonds in Organic Molecules. In *Dynamic Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*; Jackman, L., Ed.; Elsevier, 1975; pp 163–201.
 - (66) Vigevani, A.; Gioia, B.; Cavalleri, B.; Gallo, G. . G. Chemical Shift Non-Equivalence of Methylene Protons Adjacent to an Asymmetric Nitrogen Atom. *Org. Magn. Reson.* **1971**, 3 (2), 249–253.
 - (67) Lowe, D. M.; Corbett, P. T.; Murray-Rust, P.; Glen, R. C. Chemical Name to Structure: OPSIN, an Open Source Solution. *J. Chem. Inf. Model.* **2011**, 51 (3), 739–753.
 - (68) River, K.; Nutrient, R.; Study, L. *Analytical Report of Alpha-Ethylaminopentiophenone*; 2005; Vol. 5983.
 - (69) Paul, D.; Iula, D. M.; Park, F. *Characterization of the Synthetic Cathinone N - Ethylbuphedrone*.
 - (70) Formula, C.; Weight, M.; Determined, N. *Characterization of 4-Methyl- α -Pyrrolidinopropiophenone*; 2013.
 - (71) Formula, C.; Weight, M.; Determined, N. *Characterization of Diethylcathinone*; 2013.
 - (72) Cason, T. A. Synthesis and Identification of N,N-Dimethylcathinone Hydrochloride. *Microgram J.* **2007**, 5 (1–4), 12.
 - (73) Zhou, M.-J.; Bouazzaoui, S.; Jones, L. E.; Goodrich, P.; Bell, S. E. J.; Sheldrake, G. N.; Horton, P. N.; Coles, S. J.; Fletcher, N. C. Isolation and Structural Determination of Non-Racemic Tertiary Cathinone Derivatives. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13 (37), 9629–9636.
 - (74) Zuba, D. Identification of Cathinones and Other Active Components of “Legal Highs” by Mass Spectrometric Methods. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2012**, 32, 15–30.
 - (75) Westphal, F.; Junge, T.; Klein, B.; Fritschi, G.; Girreser, U. Spectroscopic Characterization of 3,4-Methylenedioxypyrrolidinobutyrophenone: A New Designer

- Drug with α -Pyrrolidinophenone Structure. *Forensic Sci. Int.* **2011**, 209 (1–3), 126–132.
- (76) Westphal, F.; Junge, T.; Rosner, P.; Sonnichsen, F.; Schuster, F. Mass and NMR Spectroscopic Characterization of 3,4-Methylenedioxypropylone: A Designer Drug with α -Pyrrolidinophenone Structure. *Forensic Sci. Int.* **2009**, 190 (1–3), 1–8.
- (77) Westphal, F.; Junge, T.; Rosner, P.; Fritsch, G.; Klein, B.; Girreser, U. Mass Spectral and NMR Spectral Data of Two New Designer Drugs with an α -Aminophenone Structure: 4'-Methyl- α -Pyrrolidinohexanophenone and 4'-methyl- α -Pyrrolidinobutyrophenone. *Forensic Sci. Int.* **2007**, 169 (1), 32–42.
- (78) SWGDrug. *N-Ethylpentylone*; 2016.
- (79) Camilleri, A.; Johnston, M. R.; Brennan, M.; Davis, S.; Caldicott, D. G. E. Chemical Analysis of Four Capsules Containing the Controlled Substance Analogues 4-Methylmethcathinone, 2-Fluoromethamphetamine, α -Phthalimidopropiophenone and N-Ethylcathinone. *Forensic Sci. Int.* **2010**, 197 (1–3), 59–66.
- (80) Hyde, J. F.; Browning, E.; Adams, R. Synthetic Homologs of D,l-Ephedrine. *J. Am. Chem. Soc.* **1928**, 50 (8), 2287–2292.

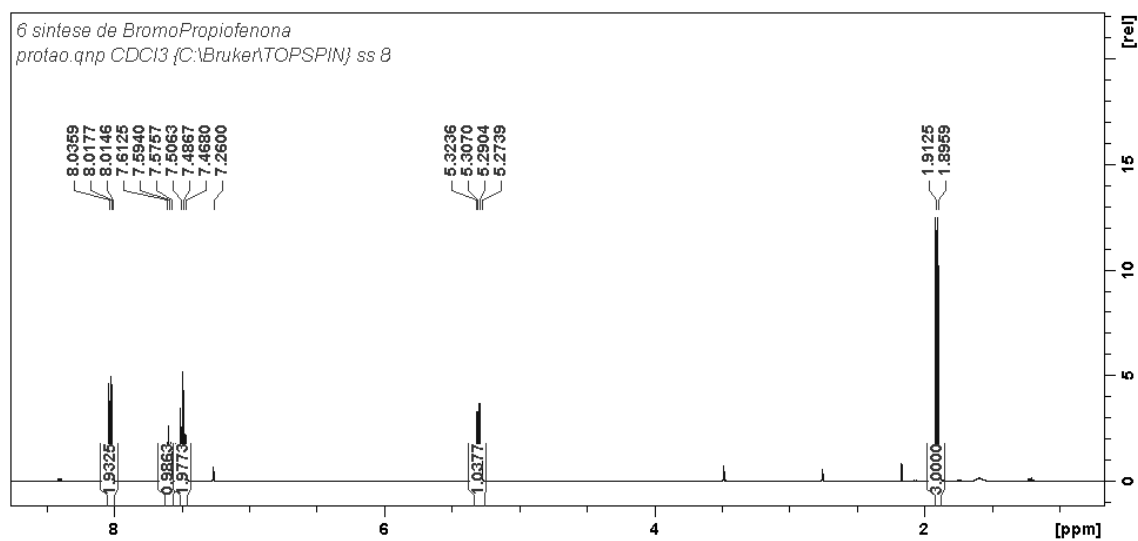
7-ANEXOS

7 Anexos

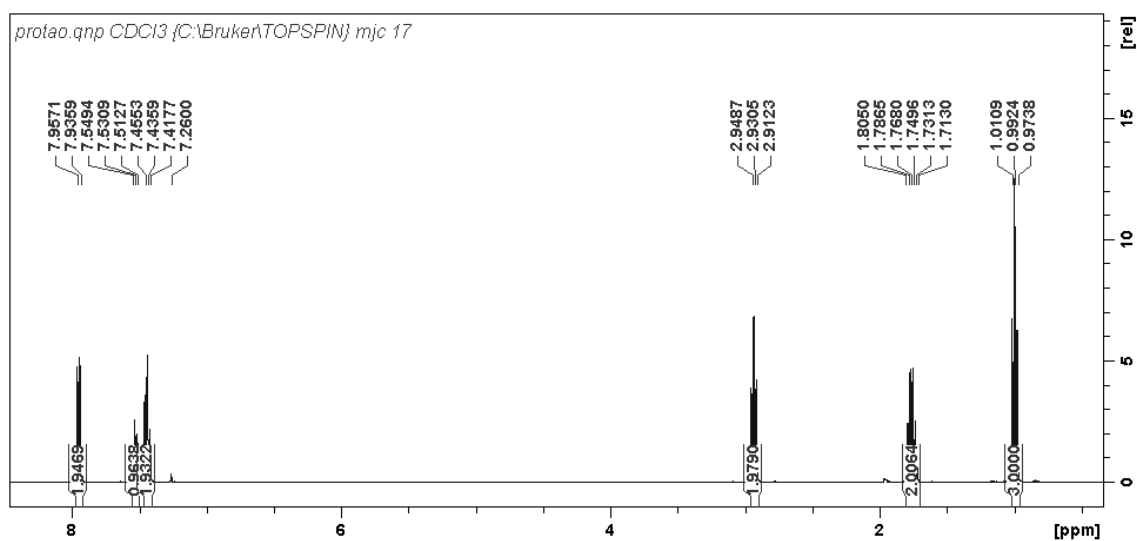
Anexo 7.1 - Espectro de RMN ^1H da Propiofenona.



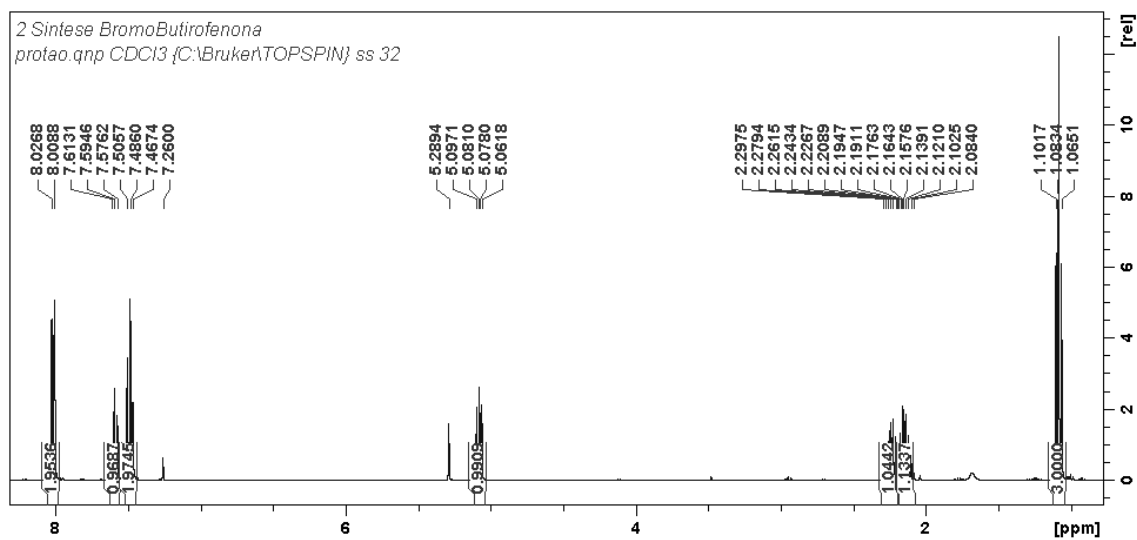
Anexo 7.2 - Espectro de RMN ^1H da 2-Bromopropiofenona (I).



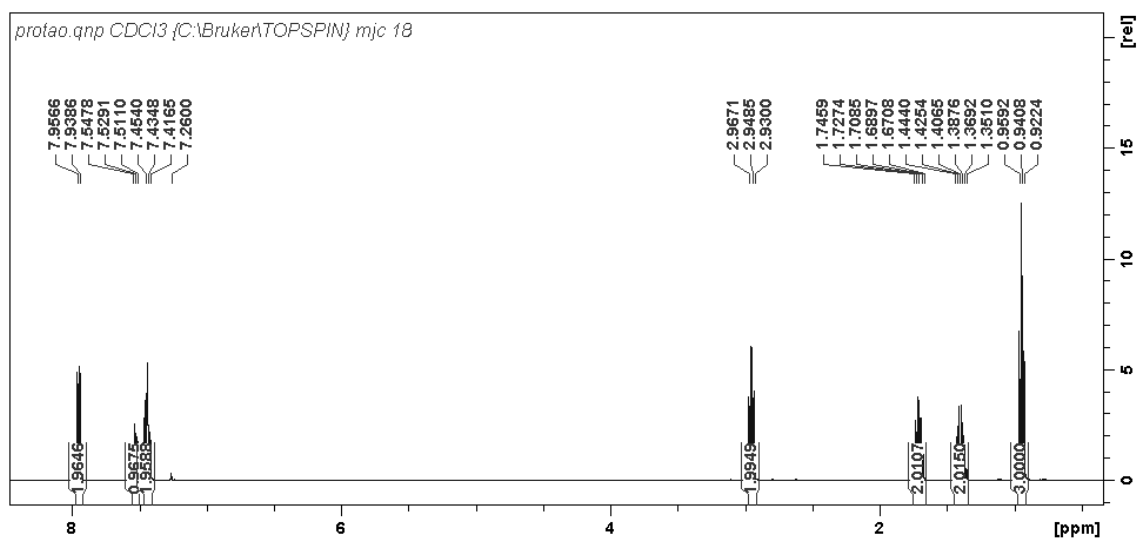
Anexo 7.3 - Espectro de RMN ^1H da Butirofenona.



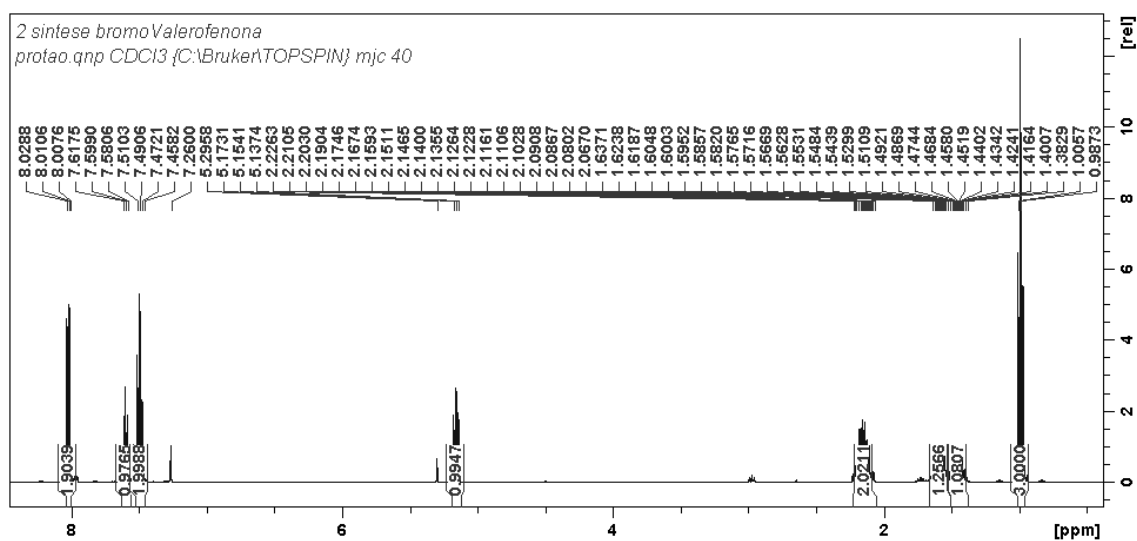
Anexo 7.4 - Espectro de RMN ^1H da 2-Bromobutirofenona (2).



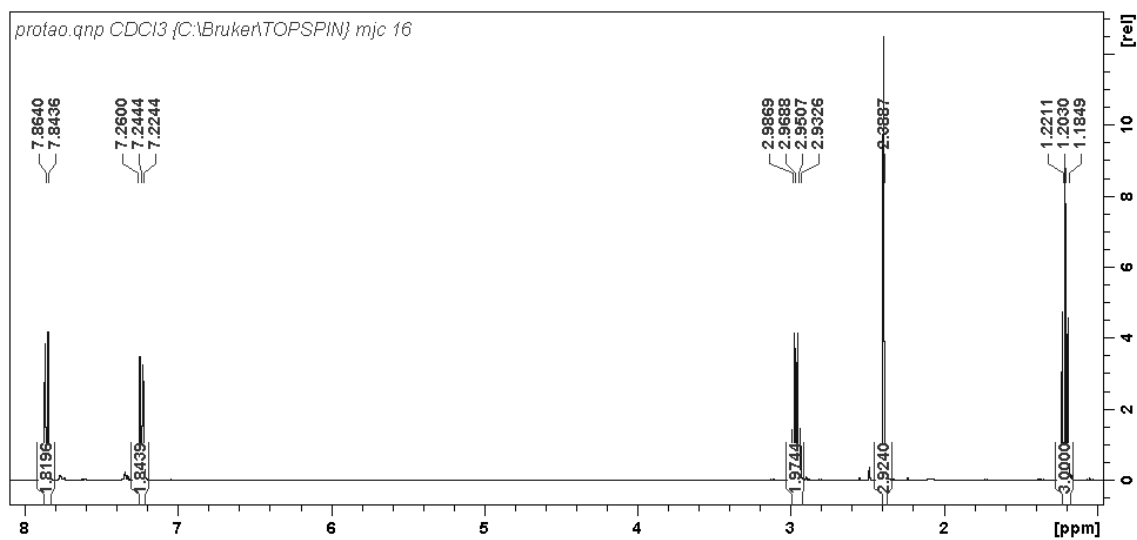
Anexo 7.5 - Espectro de RMN ^1H da Valerofenona.



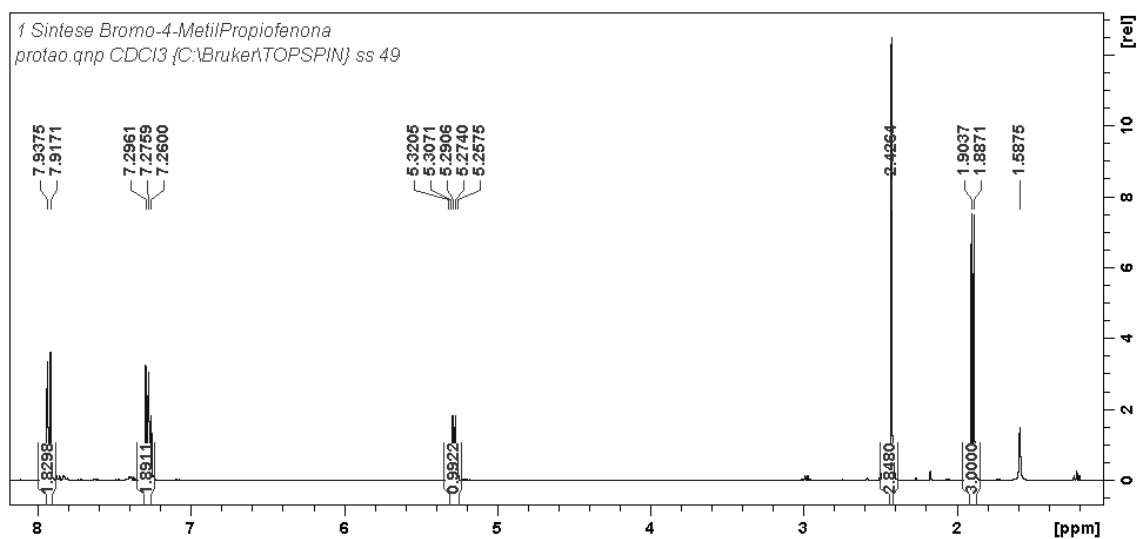
Anexo 7.6 - Espectro de RMN ^1H da 2-Bromovalerofenona (3).



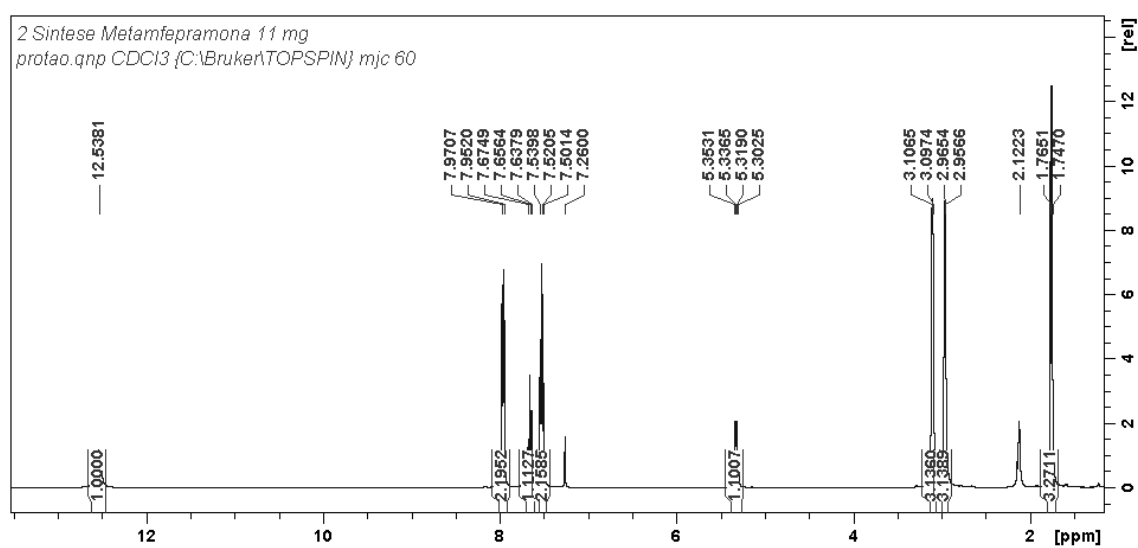
Anexo 7.7 - Espectro de RMN ^1H da 4'-metilpropiofenona.



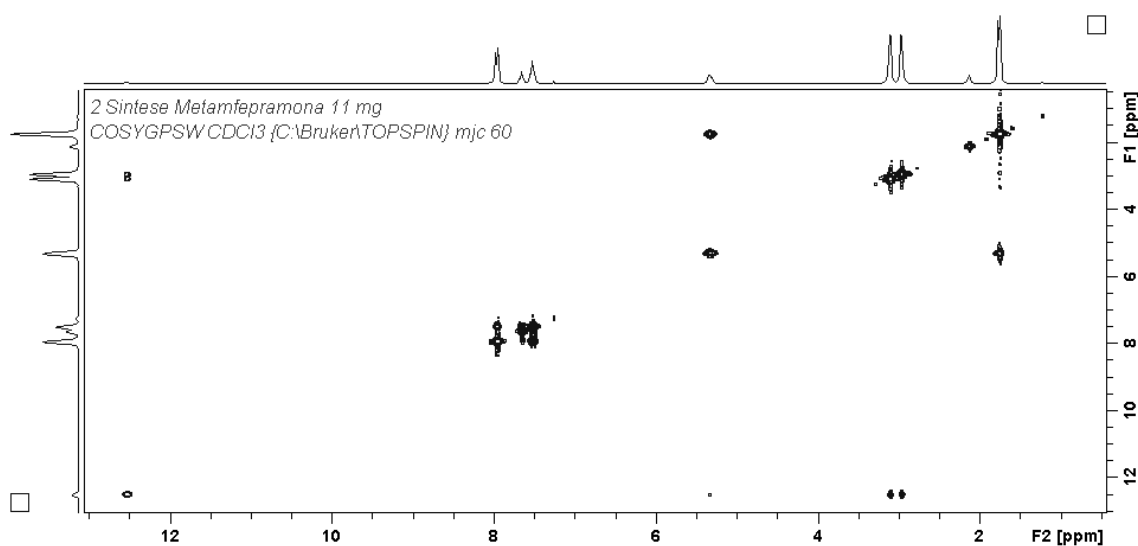
Anexo 7.8 - Espectro de RMN ^1H da 4'-metil-2-bromopropiofenona (4).



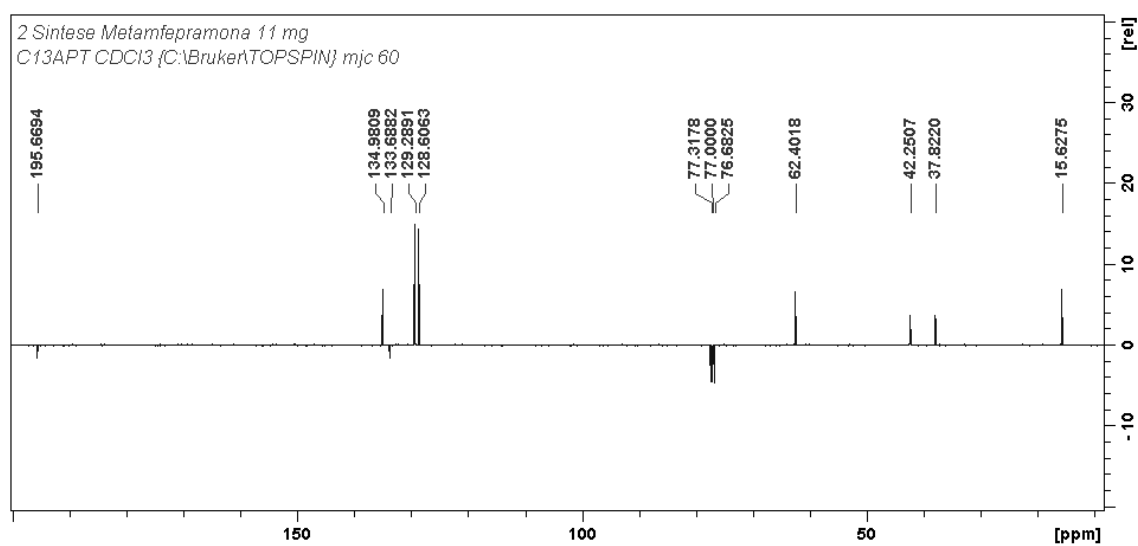
Anexo 7.9 - Espetro de RMN ^1H da DMC (5).



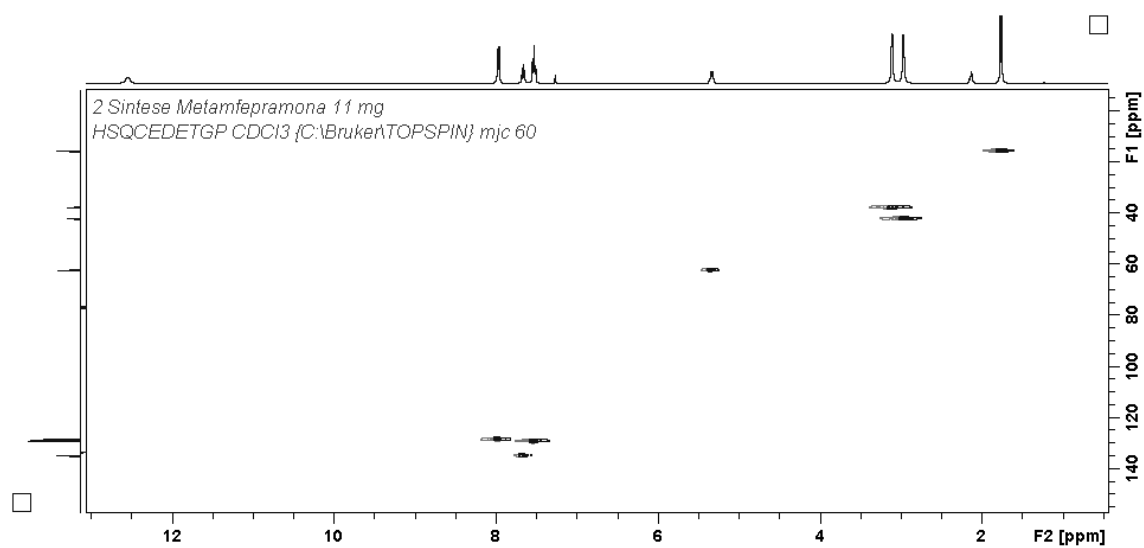
Anexo 7.10 - Espetro de COSY da DMC (5).



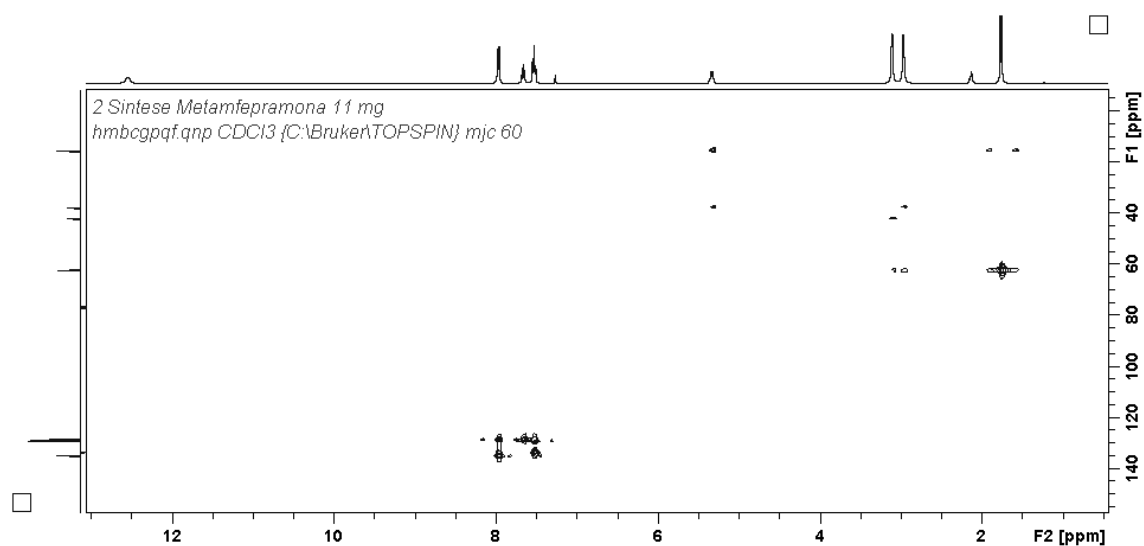
Anexo 7.11 - Espetro de APT ^{13}C da DMC (5).



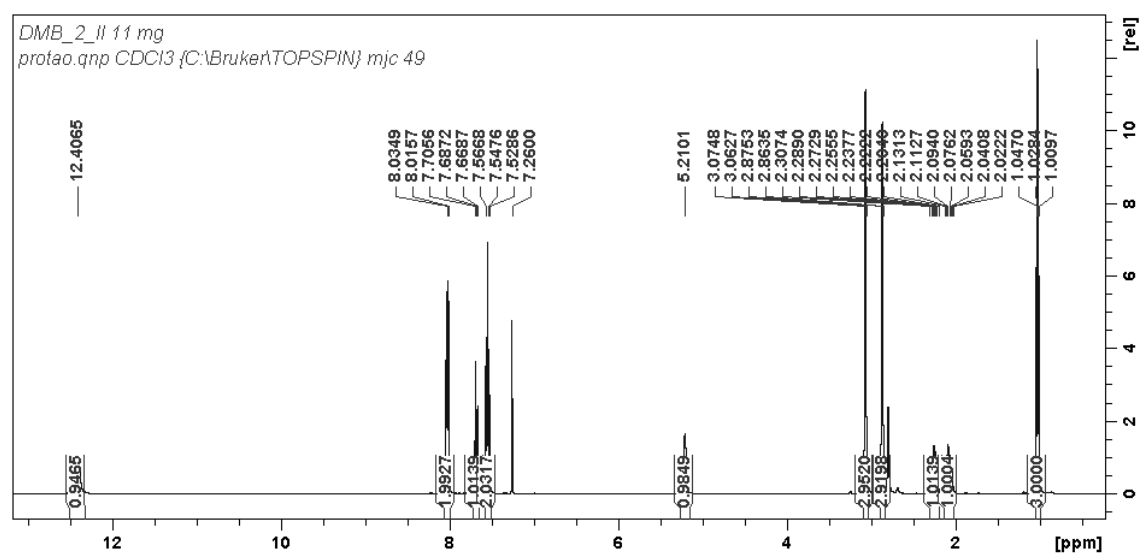
Anexo 7.12 - Espectro de HSQC-edit da DMC (5).



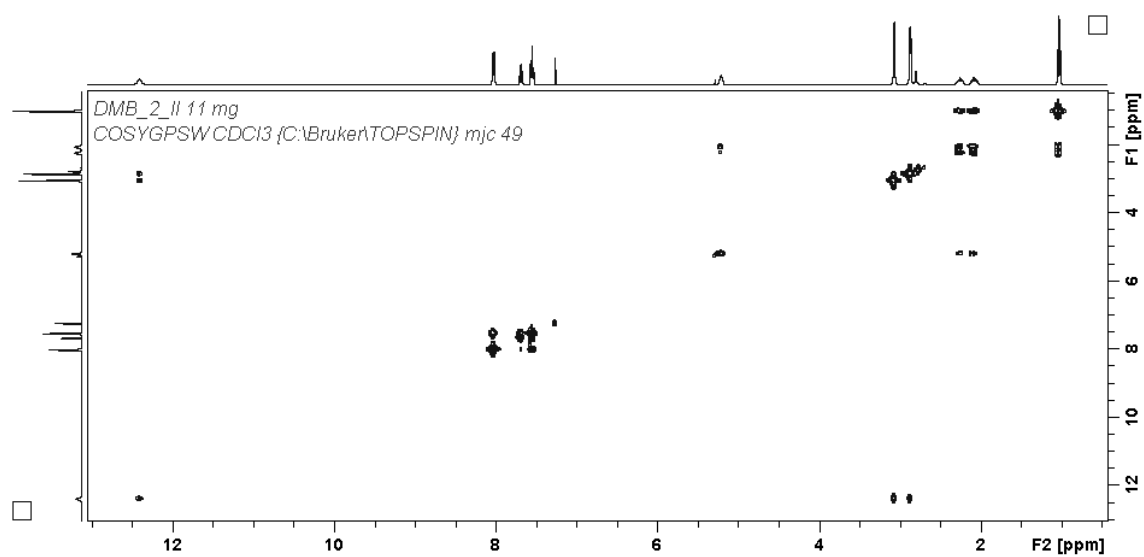
Anexo 7.13 - Espectro de HMBC da DMC (5).



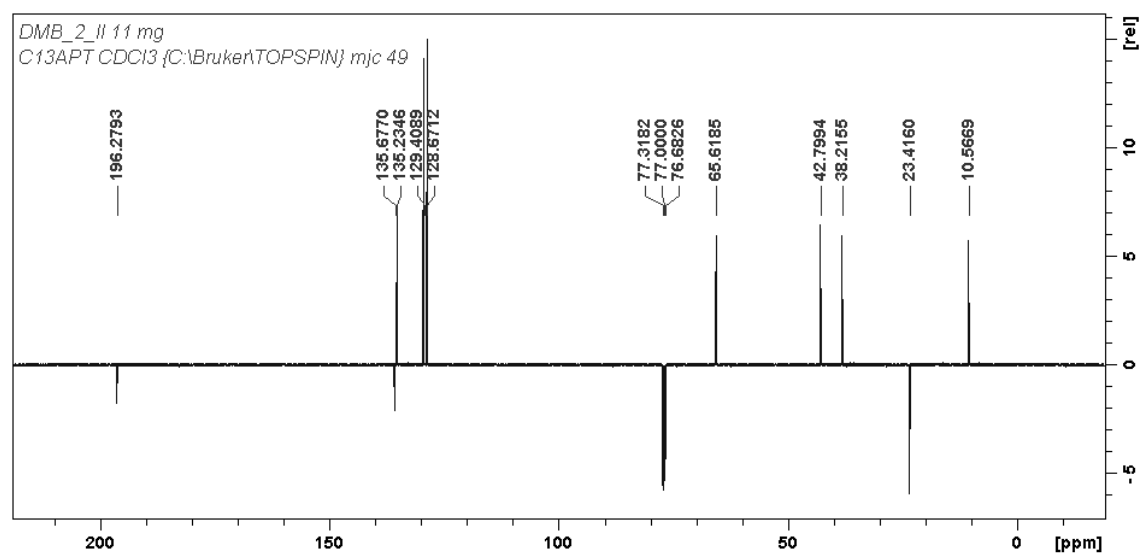
Anexo 7.14 - Espectro de RMN ¹H da DMB (6).



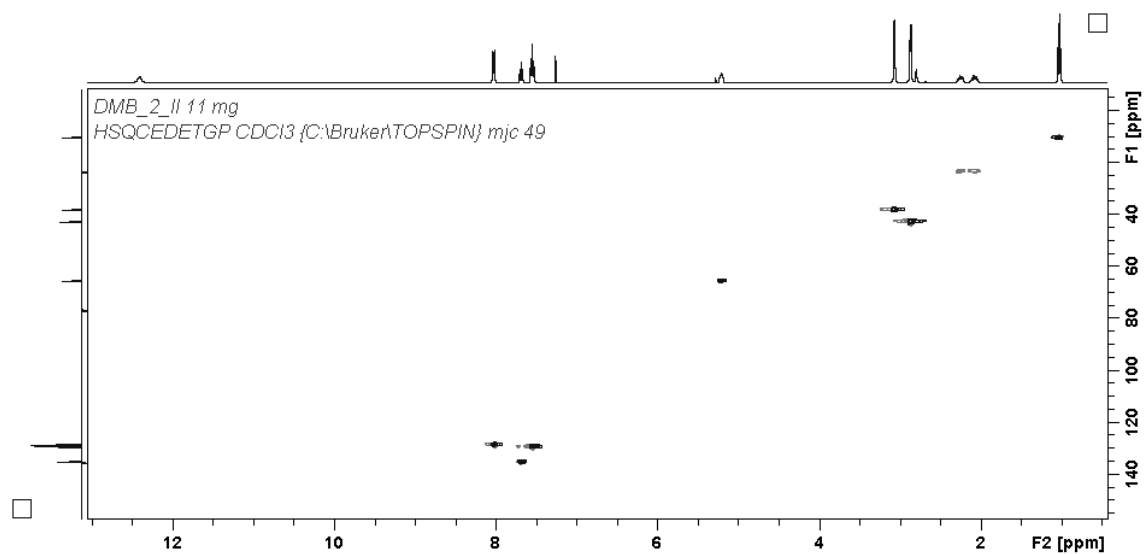
Anexo 7.15 - Espectro de COSY da DMB (6).



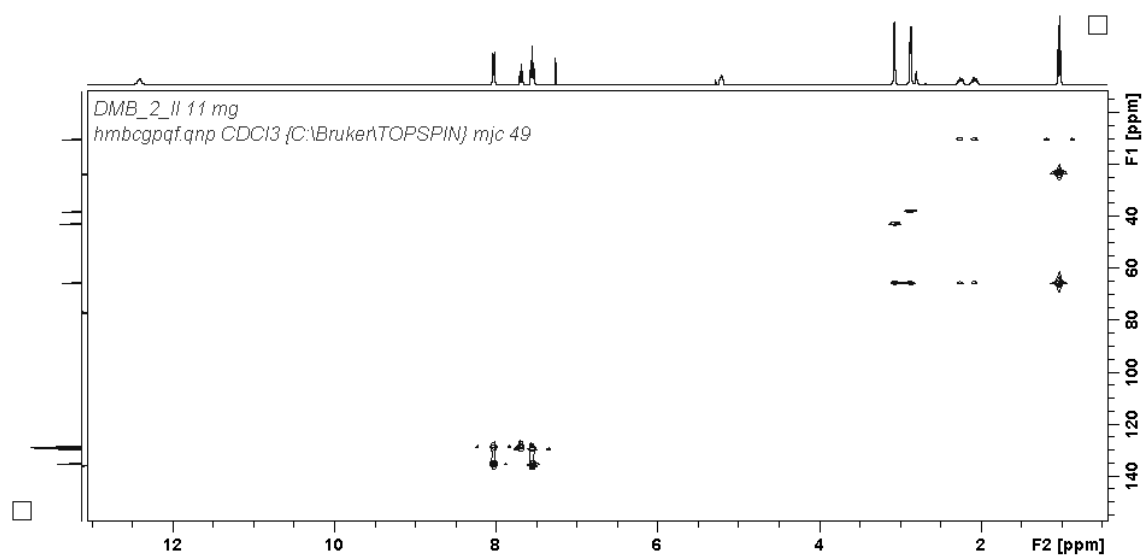
Anexo 7.16 - Espectro de APT ¹³C da DMB (6).



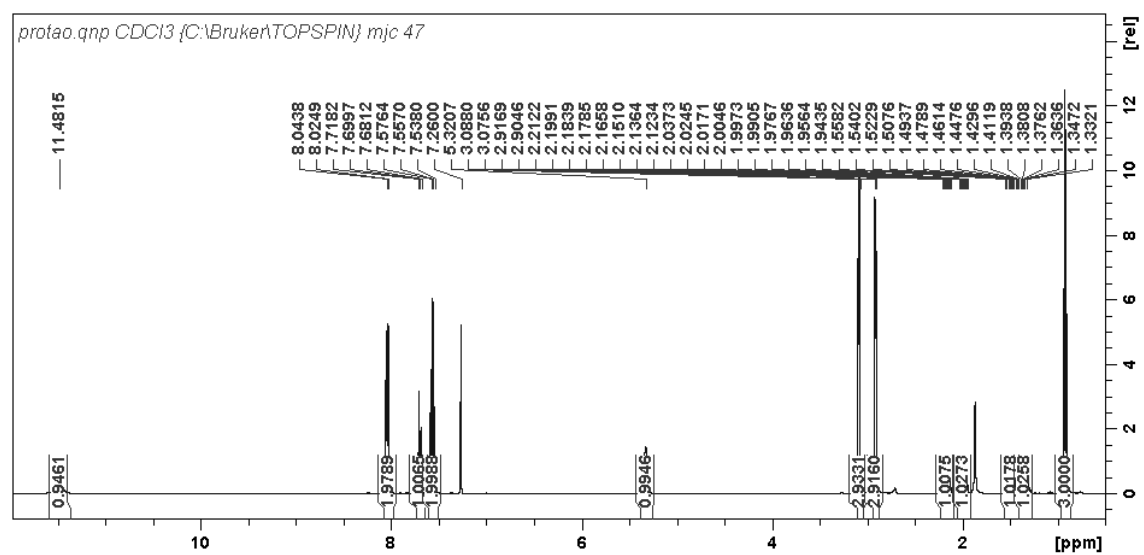
Anexo 7.17 - Espectro de HSQC-edit da DMB (6).



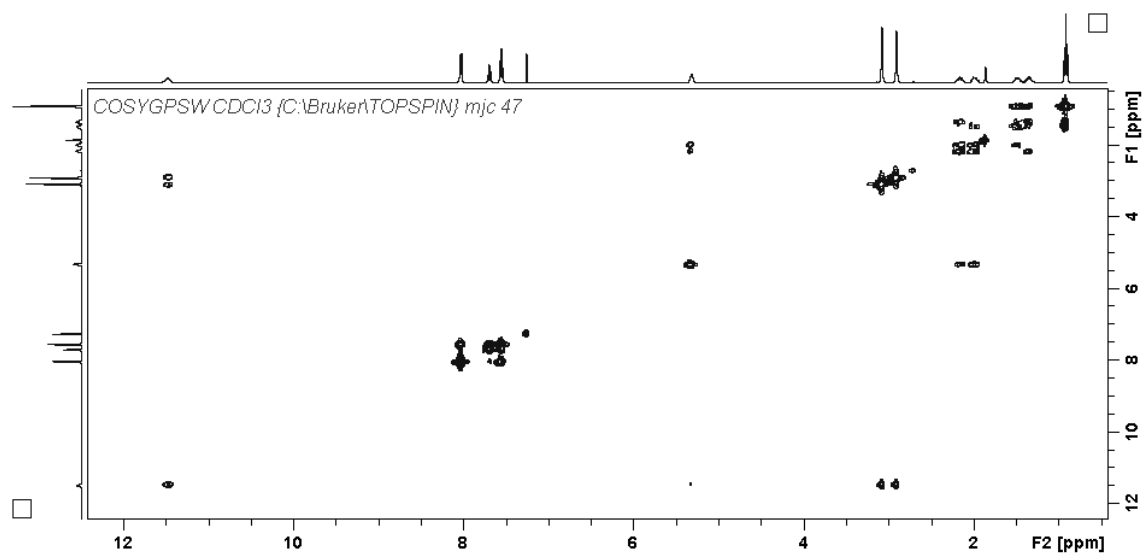
Anexo 7.18 - Espectro de HMBC da DMB (6).



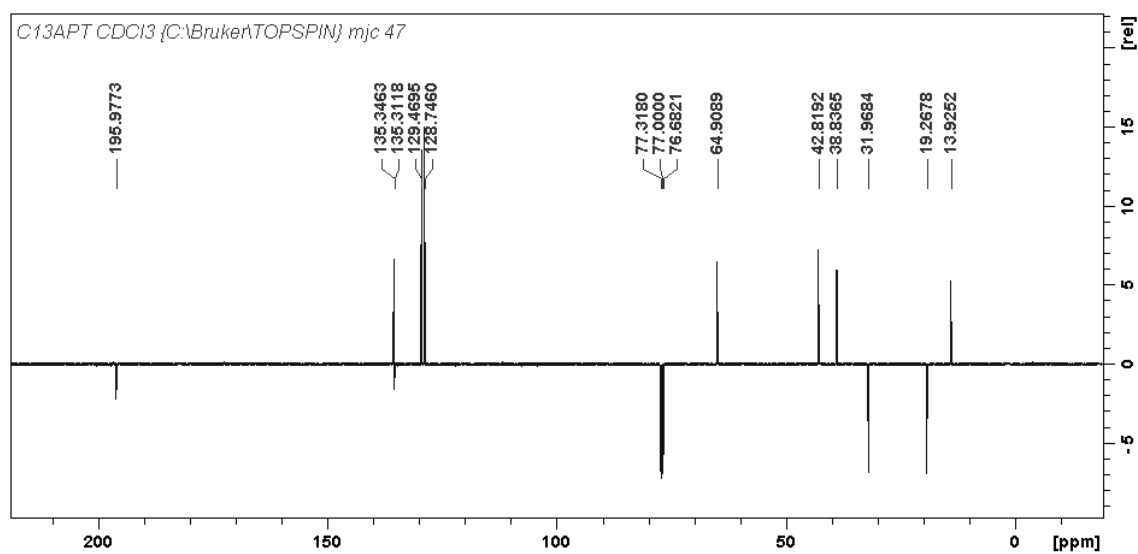
Anexo 7.19 - Espectro de RMN ¹H da DMP (7).



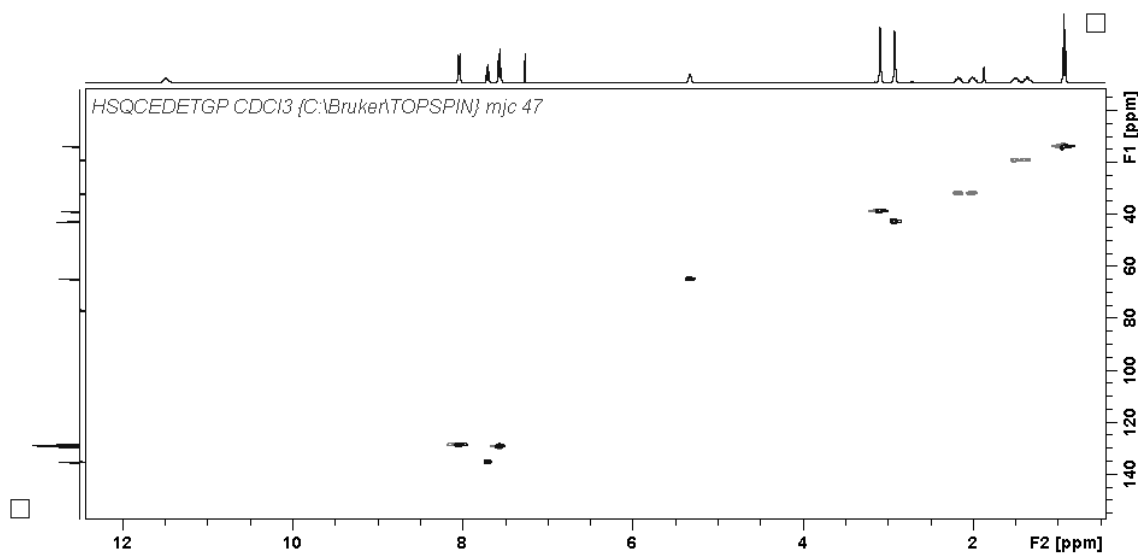
Anexo 7.20 - Espectro de COSY da DMP (7).



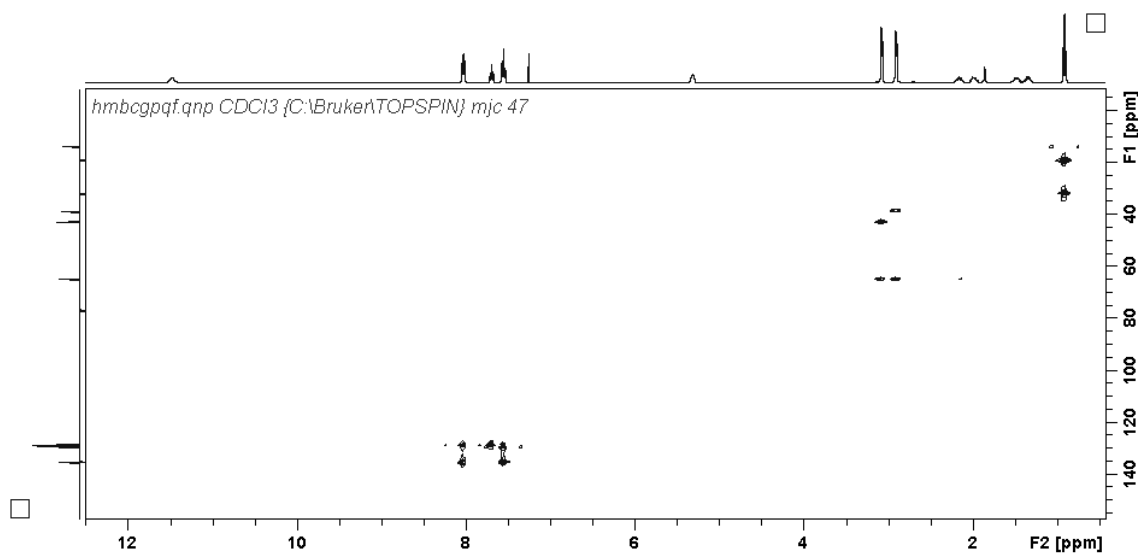
Anexo 7.21 - Espectro de APT ^{13}C da DMP (7).



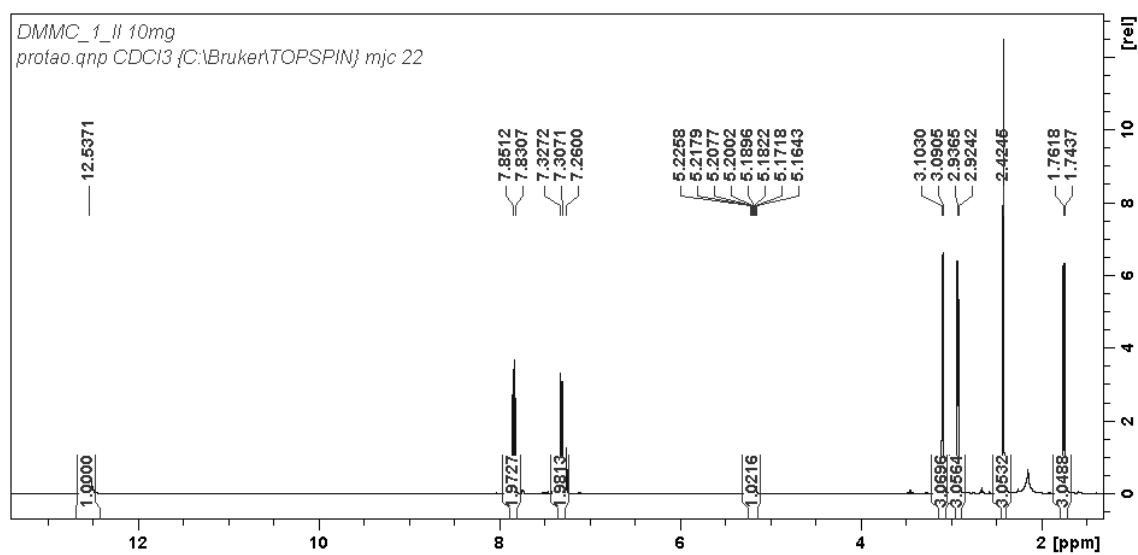
Anexo 7.22 - Espectro de HSQC-edit da DMP (7).



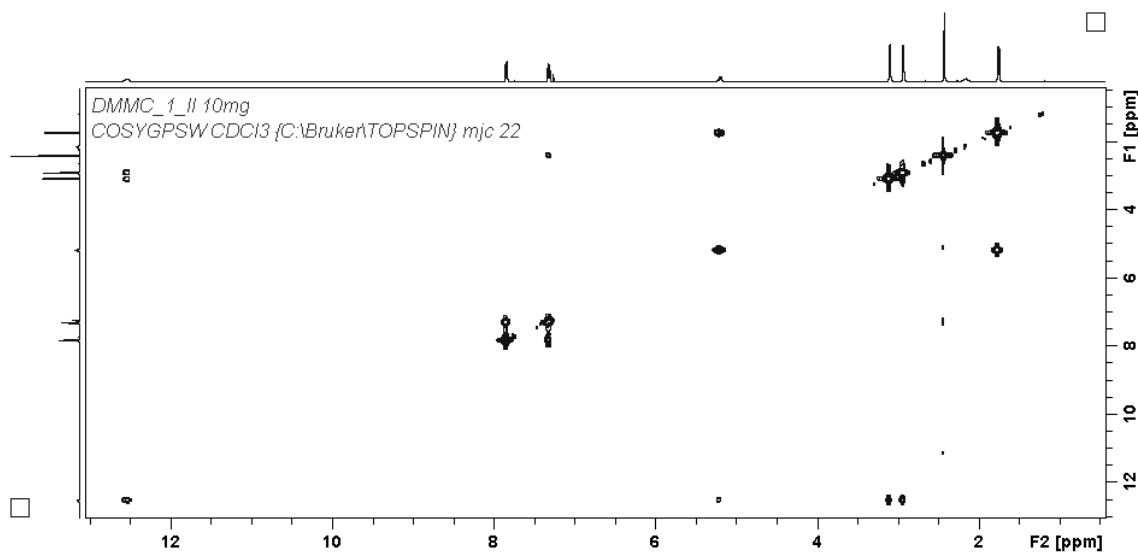
Anexo 7.23 - Espectro de HMBC da DMP (7).



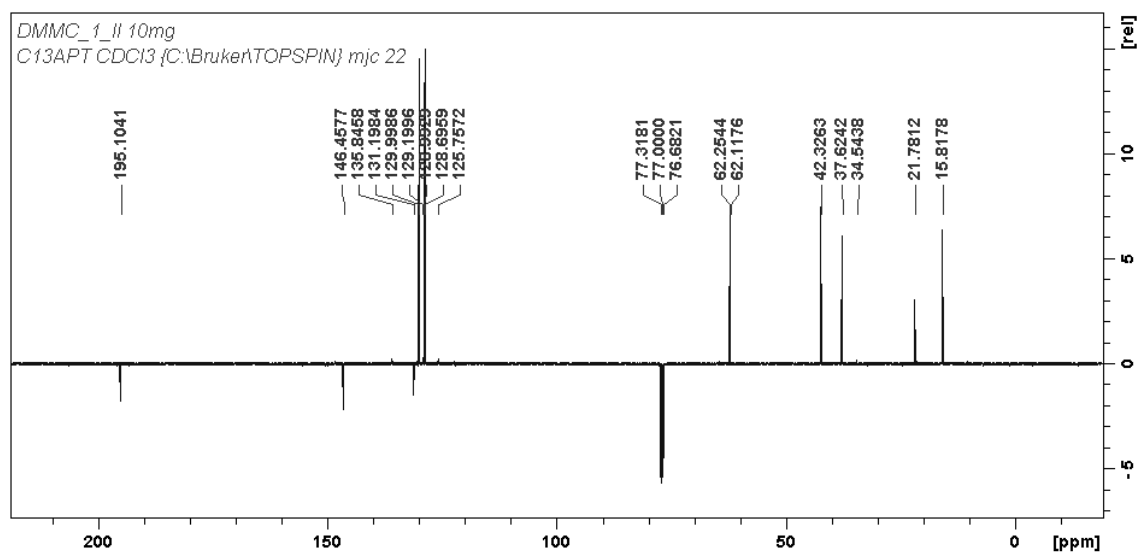
Anexo 7.24 - Espectro de RMN ^1H da 4-MDMC (8).



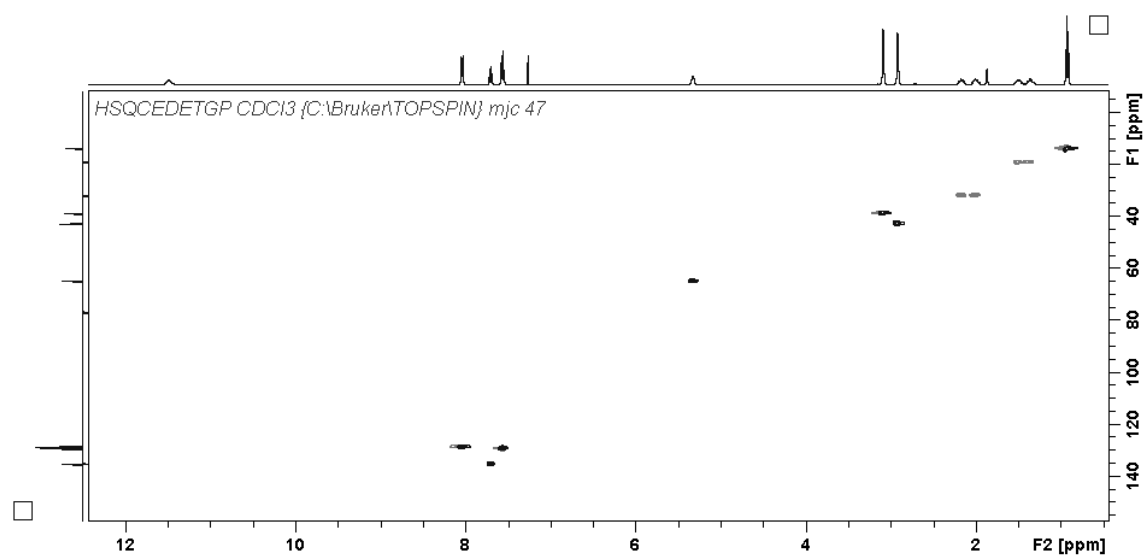
Anexo 7.25 - Espectro de COSY da 4-MDMC (8).



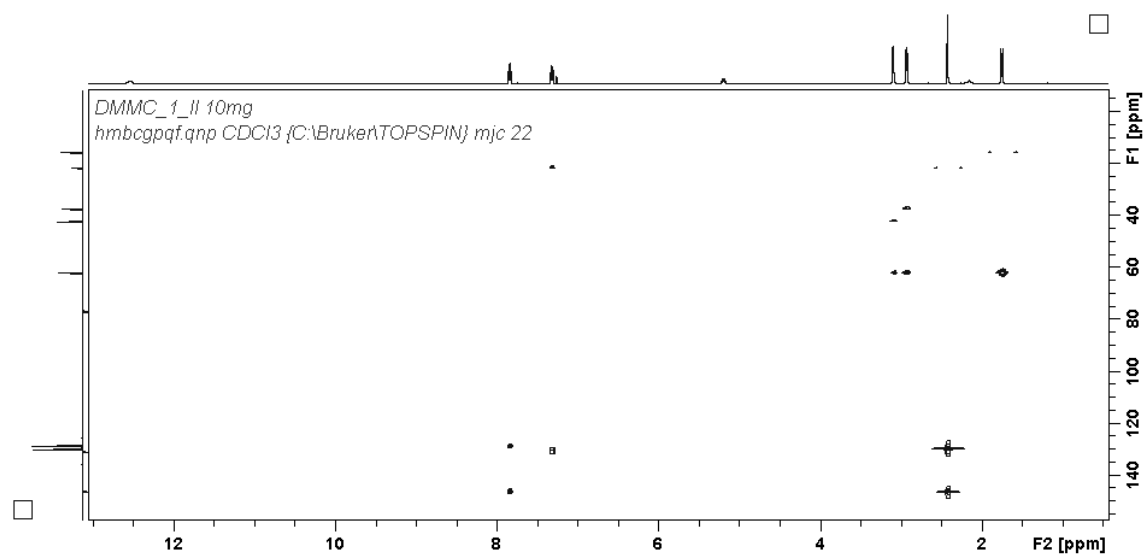
Anexo 7.26 - Espectro de APT ^{13}C da 4-MDMC (8).



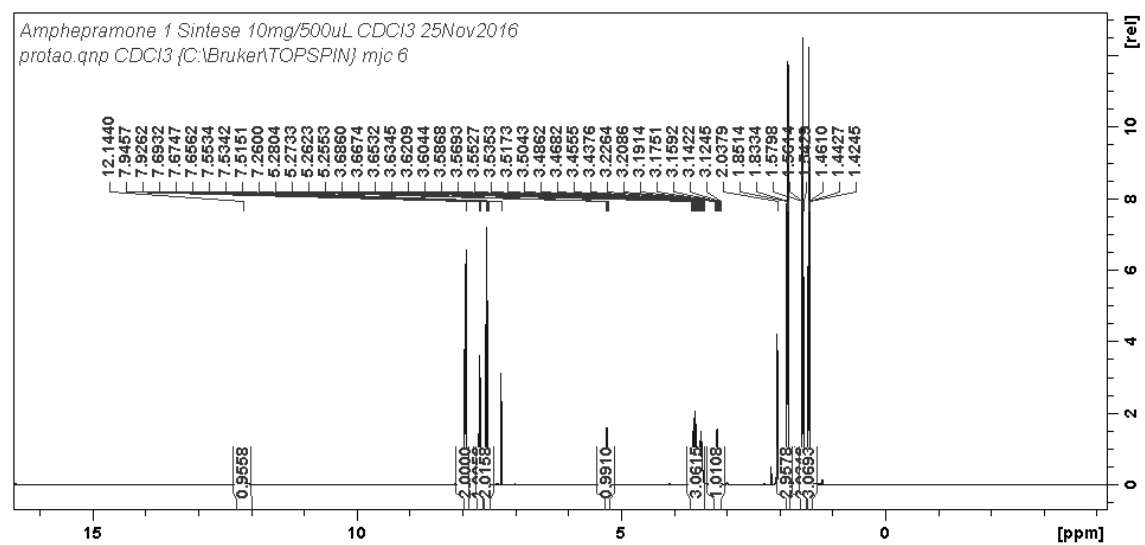
Anexo 7.27 - Espectro de HSQC-edit da 4-MDMC (8).



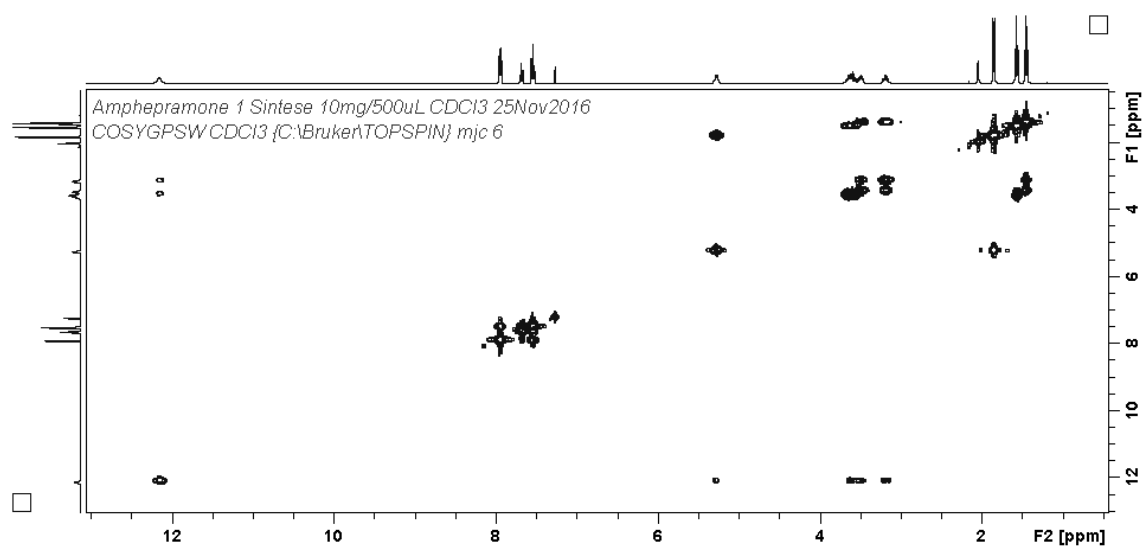
Anexo 7.28 - Espectro de HMBC da 4-MDMC (8).



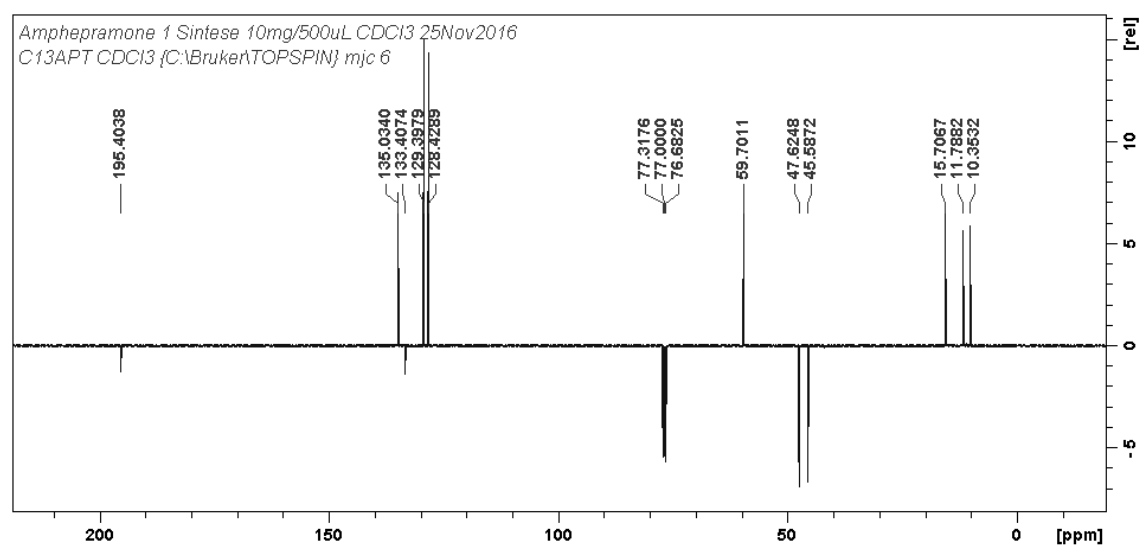
Anexo 7.29 - Espectro de RMN ¹H da AFP (9).



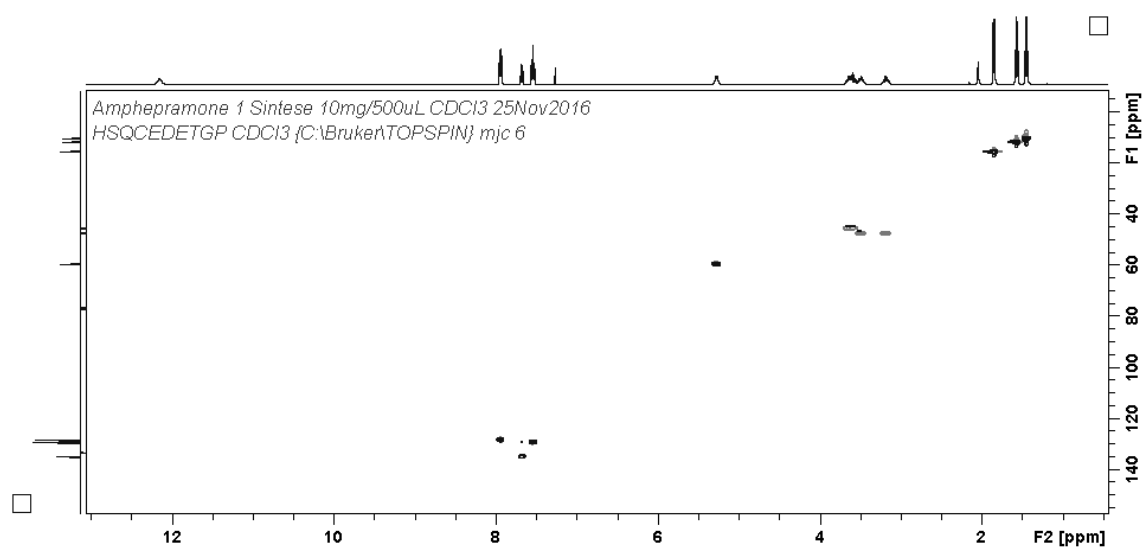
Anexo 7.30 - Espectro de COSY da AFP (9).



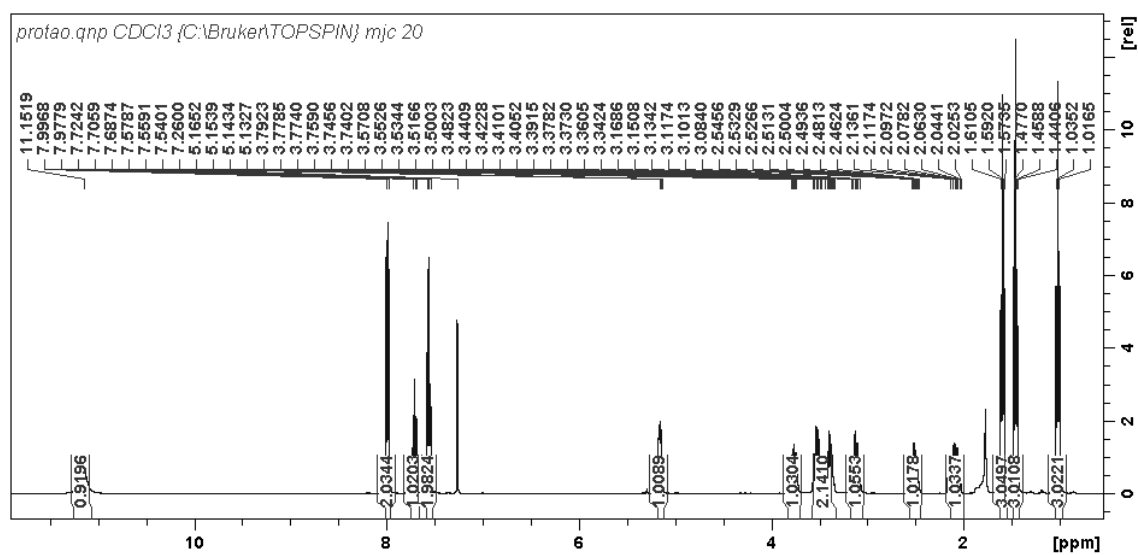
Anexo 7.31 - Espectro de APT ^{13}C da AFP (9).



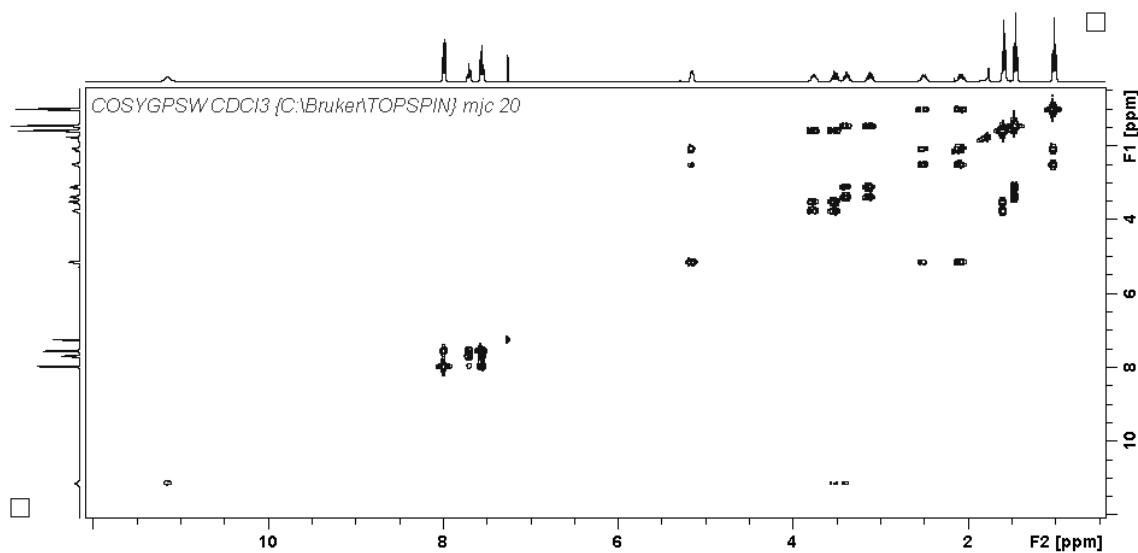
Anexo 7.32 - Espectro de HSQC-edit da AFP (9).



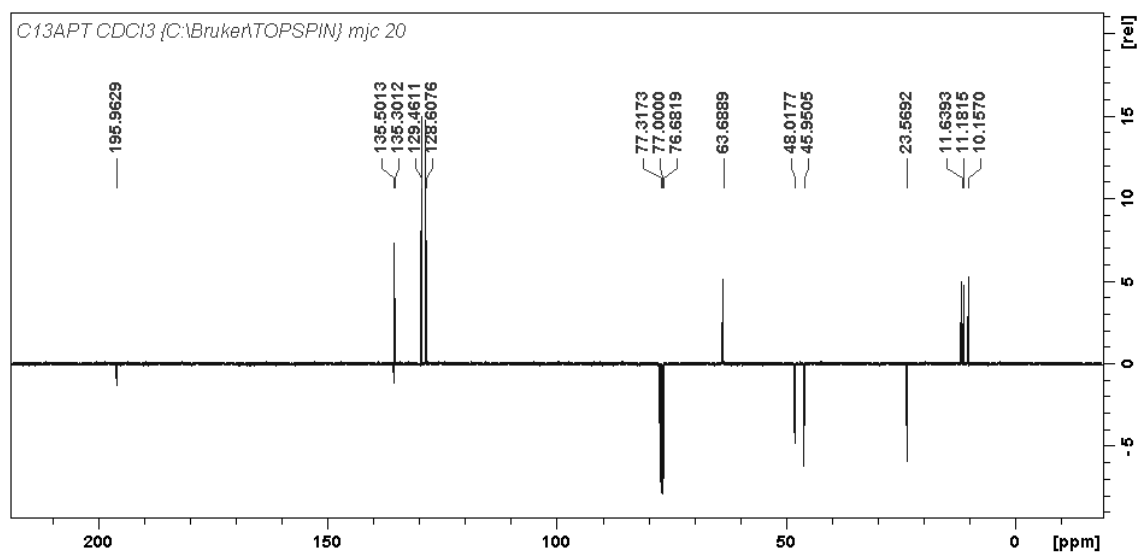
Anexo 7.33 - Espectro de RMN ^1H da DEB (10).



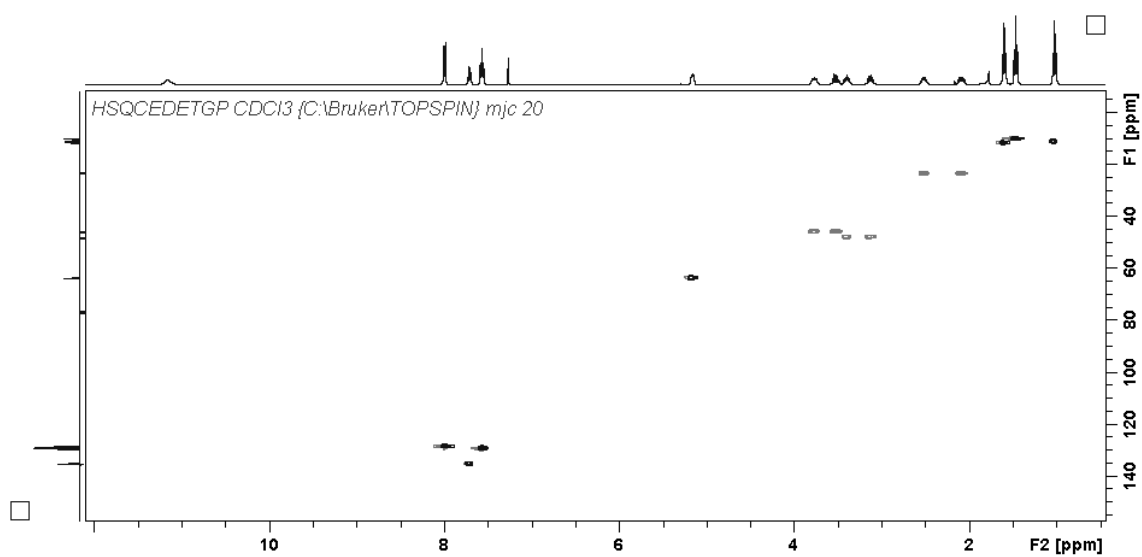
Anexo 7.34 - Espectro de COSY da DEB (10).



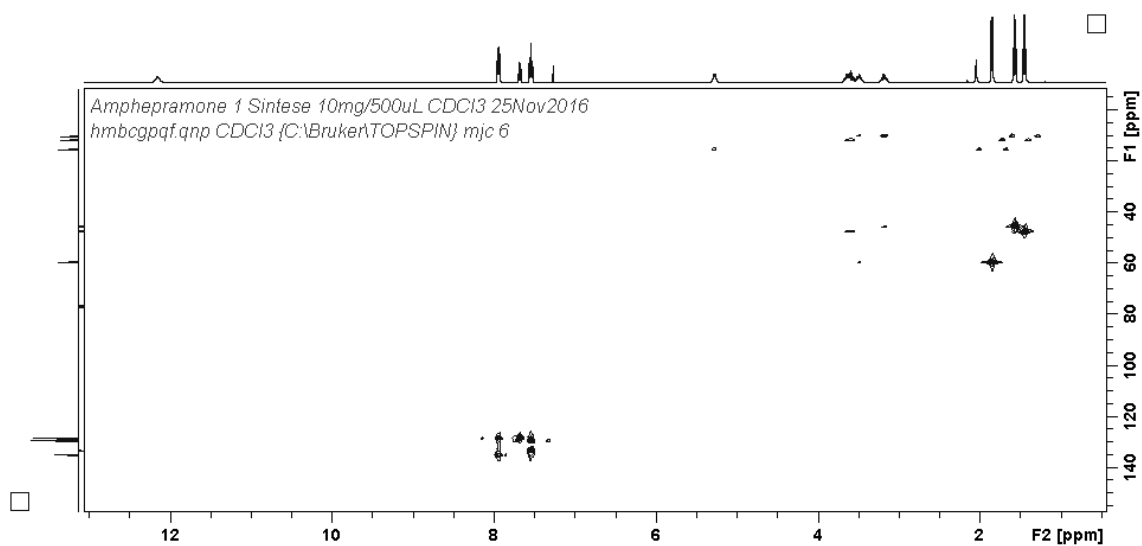
Anexo 7.35 - Espectro de APT ^{13}C da DEB (10).



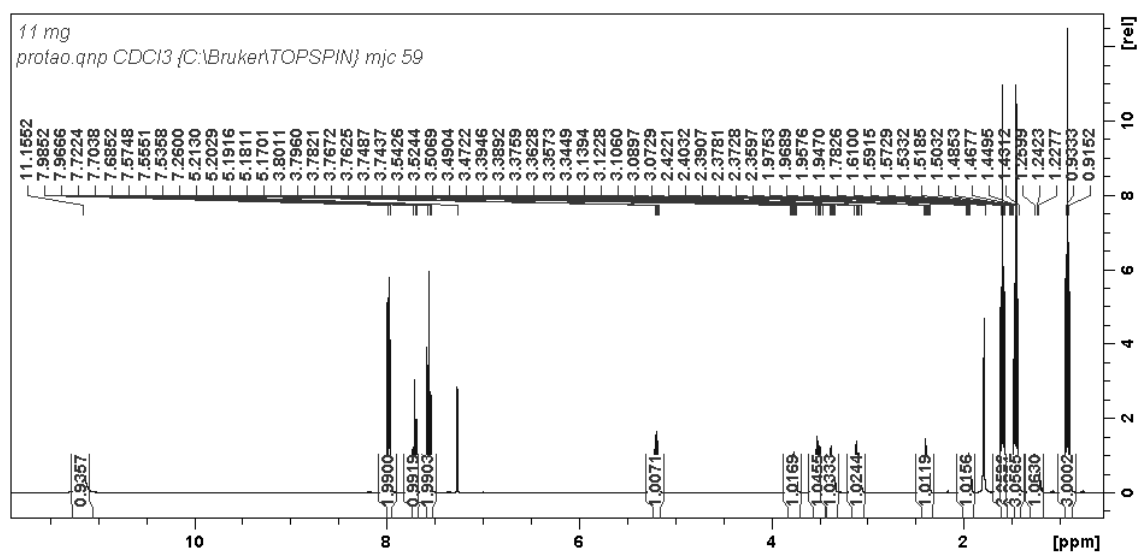
Anexo 7.36 - Espectro de HSQC-edit da DEB (10).



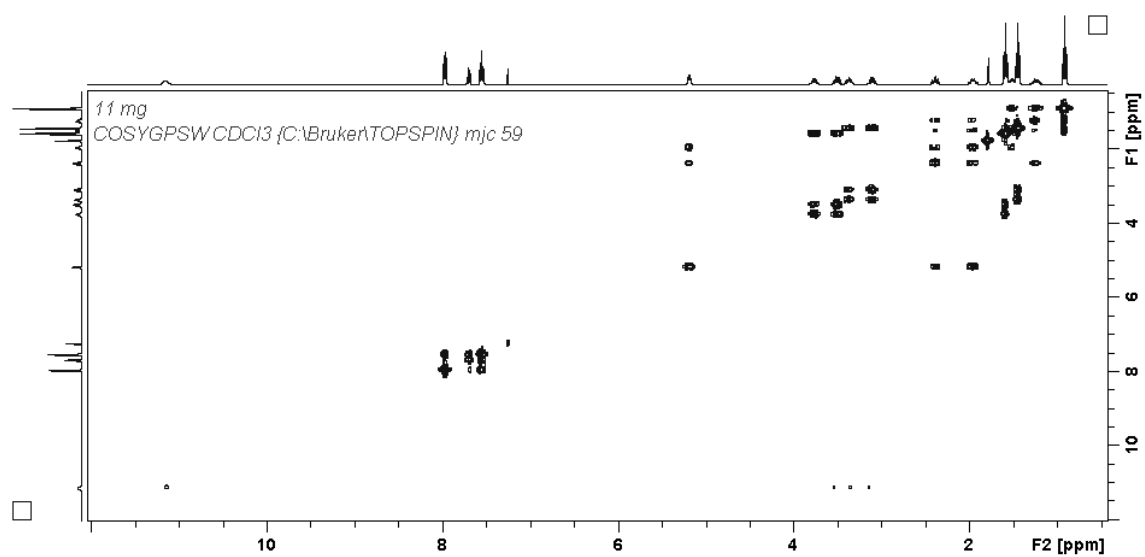
Anexo 7.37 - Espectro de HMBC da DEB (10).



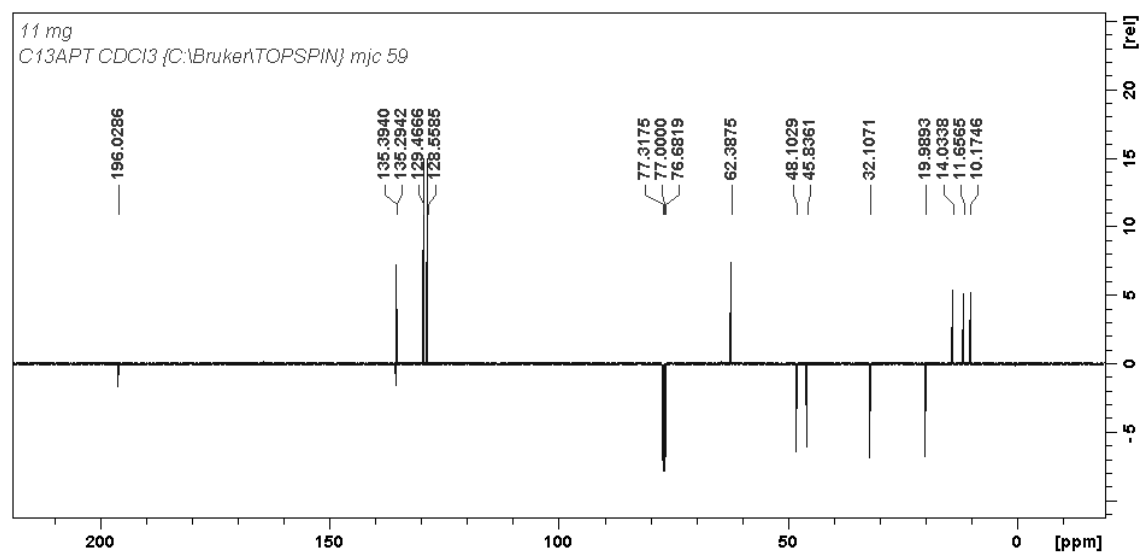
Anexo 7.38 - Espectro de RMN ^1H da DEP (11).



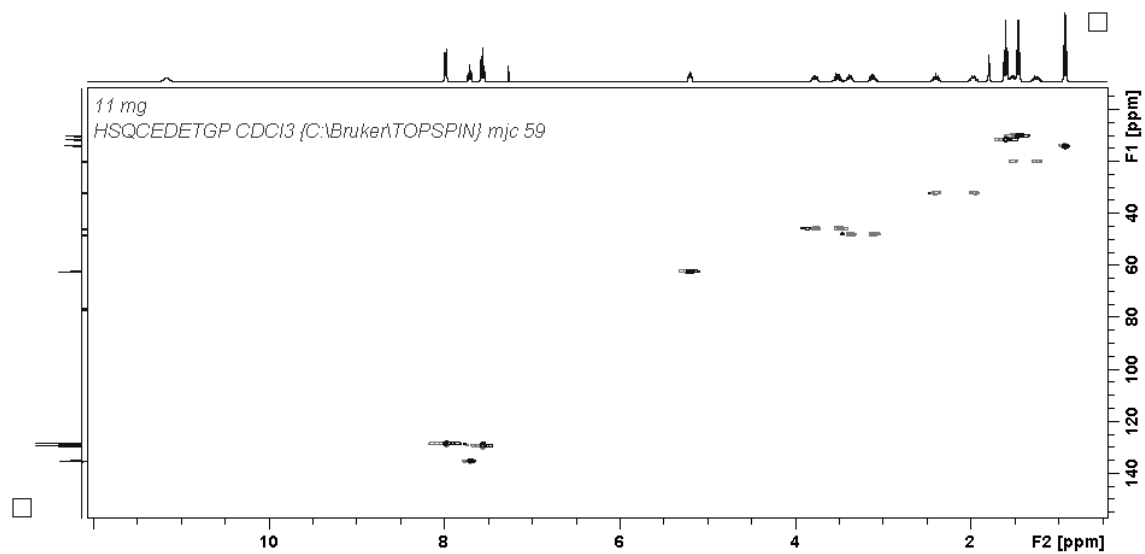
Anexo 7.39 - Espectro de COSY da DEP (II).



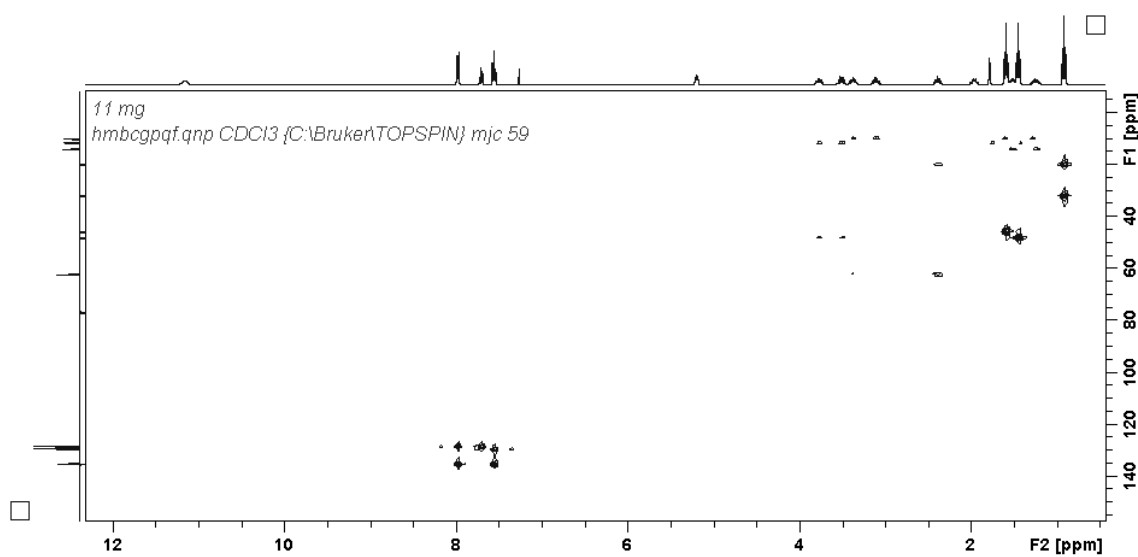
Anexo 7.40 - Espectro de APT ¹³C da DEP (II).



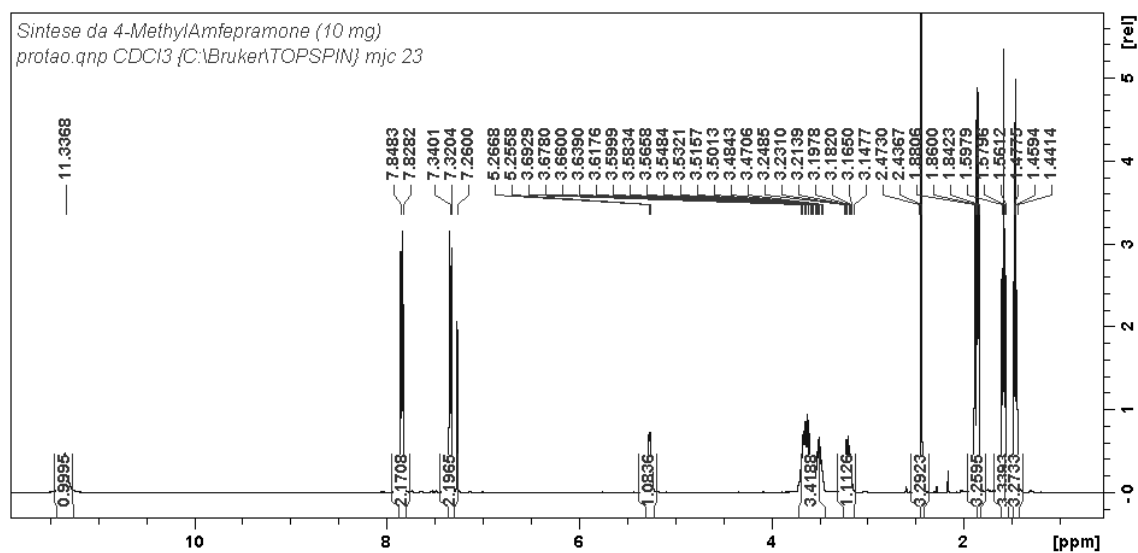
Anexo 7.41 - Espectro de HSQC-edit da DEP (II).



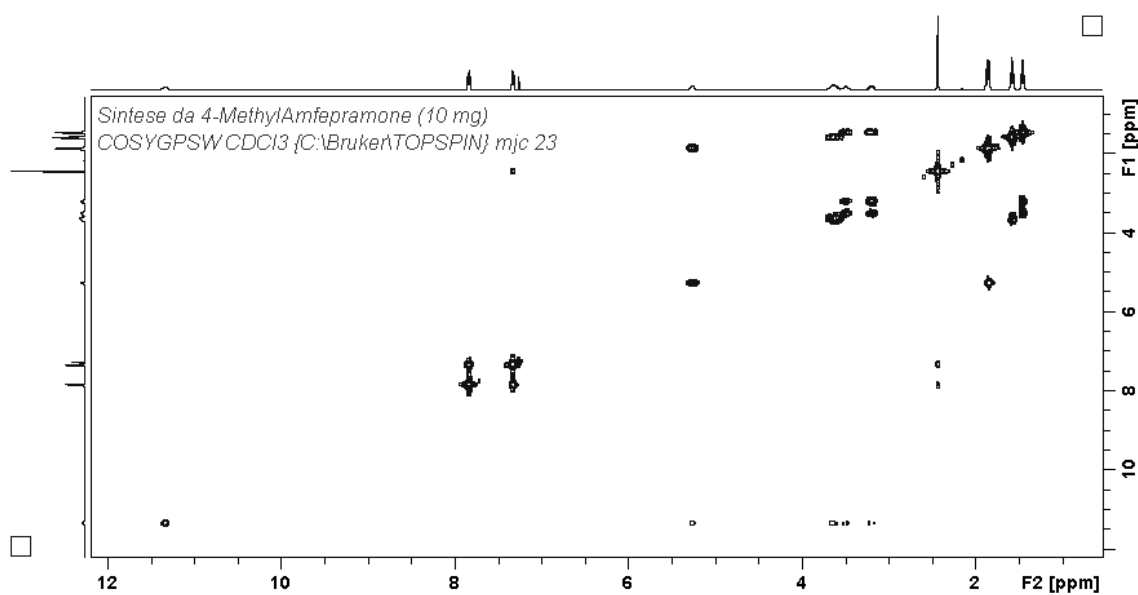
Anexo 7.42 - Espectro de HMBC da DEP (11).



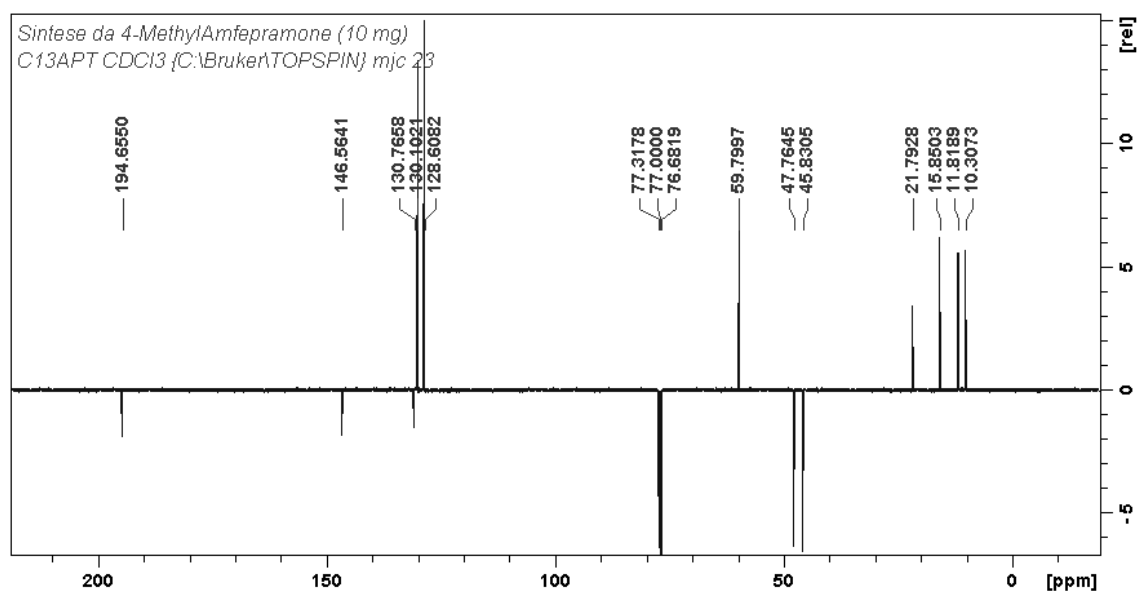
Anexo 7.43 - Espectro de RMN ¹H da 4-MAFP (12).



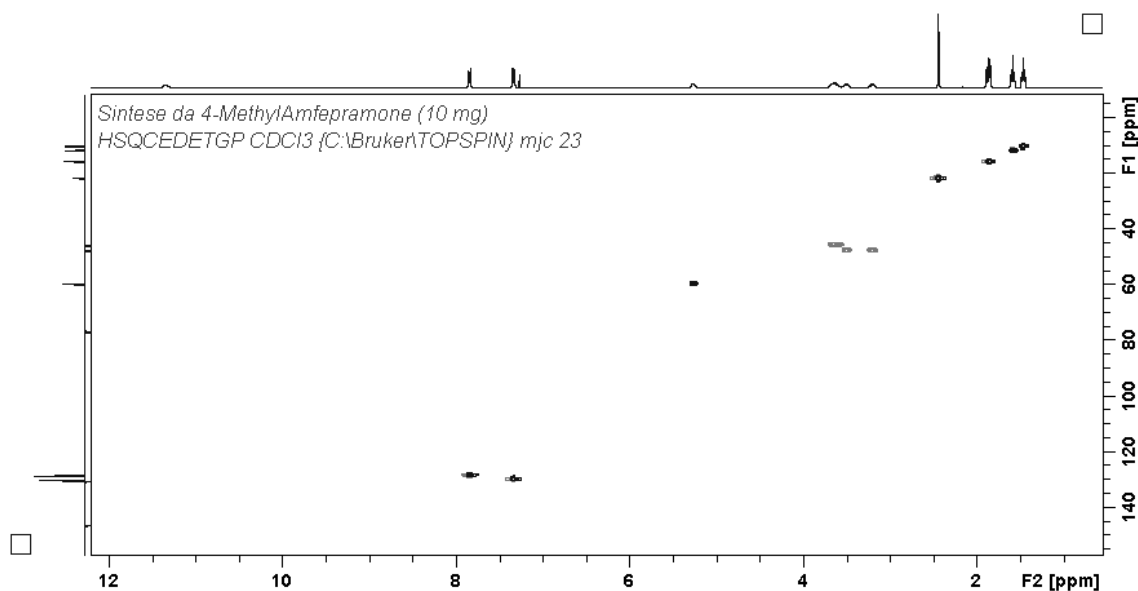
Anexo 7.44 - Espectro de RMN ¹H da 4-MAFP (12).



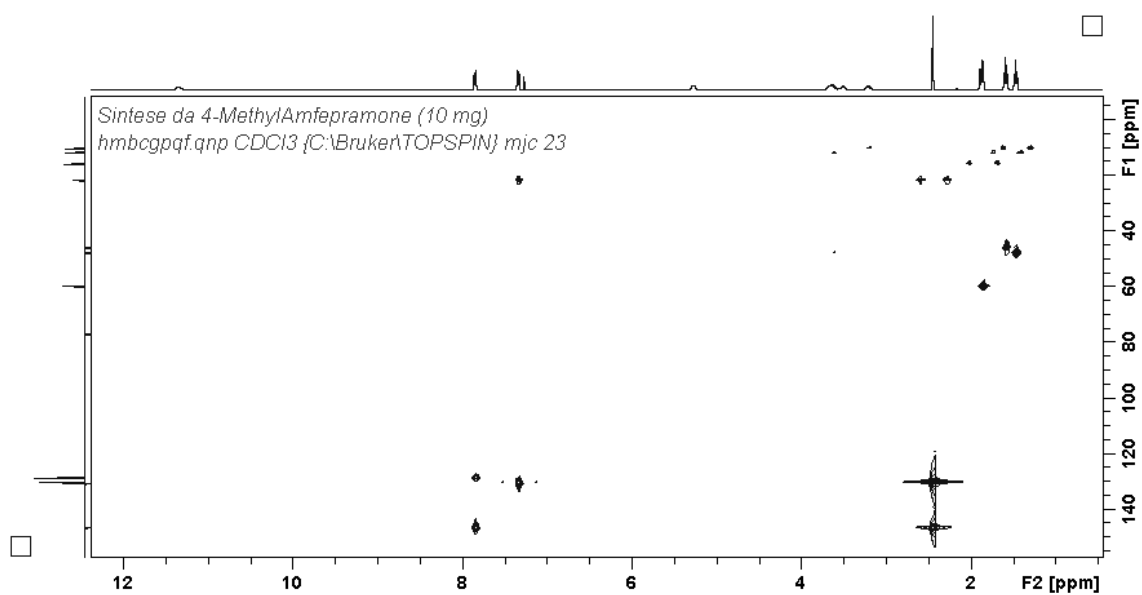
Anexo 7.45 - Espectro de APT ^{13}C da 4-MAFP (12).



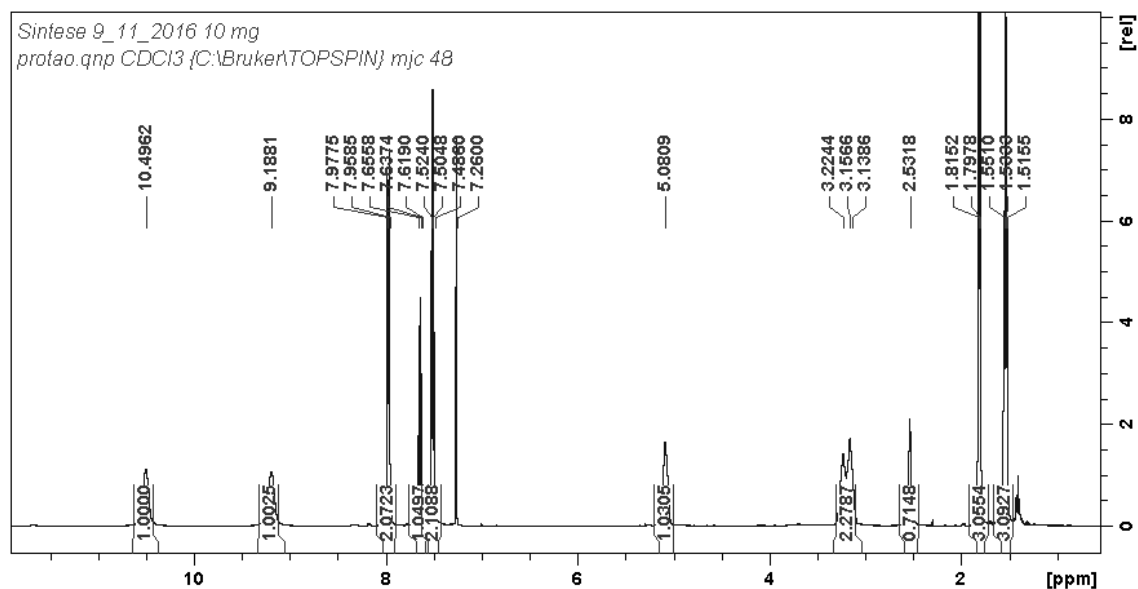
Anexo 7.46 - Espectro de HSQC-edit da 4-MAFP (12).



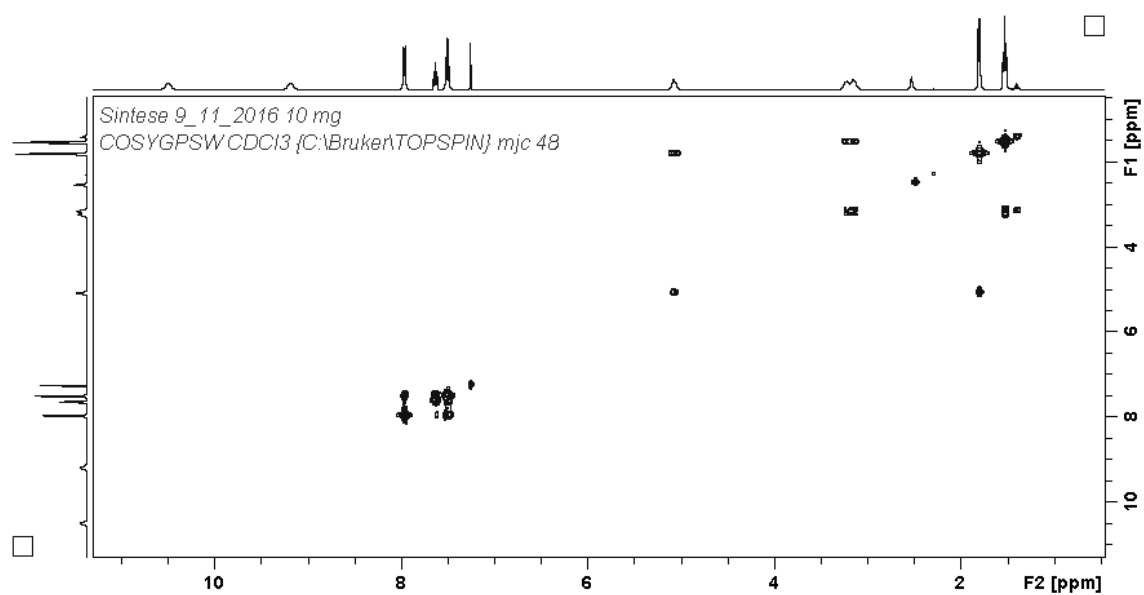
Anexo 7.47 - Espectro de HMBC da 4-MAFP (12).



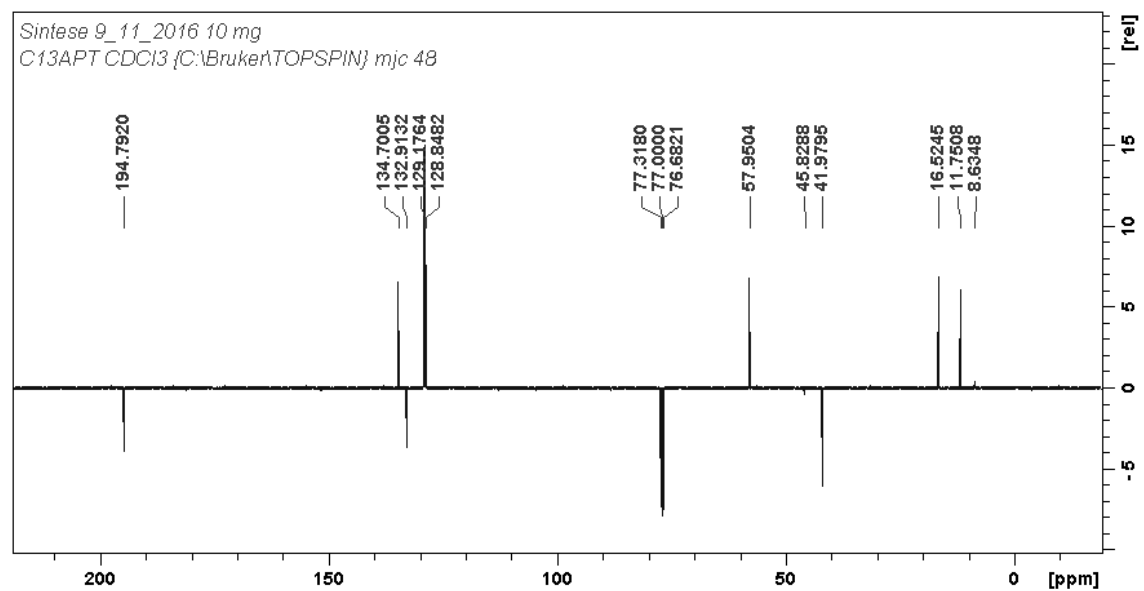
Anexo 7.48 - Espectro de RMN ¹H da NEC (13).



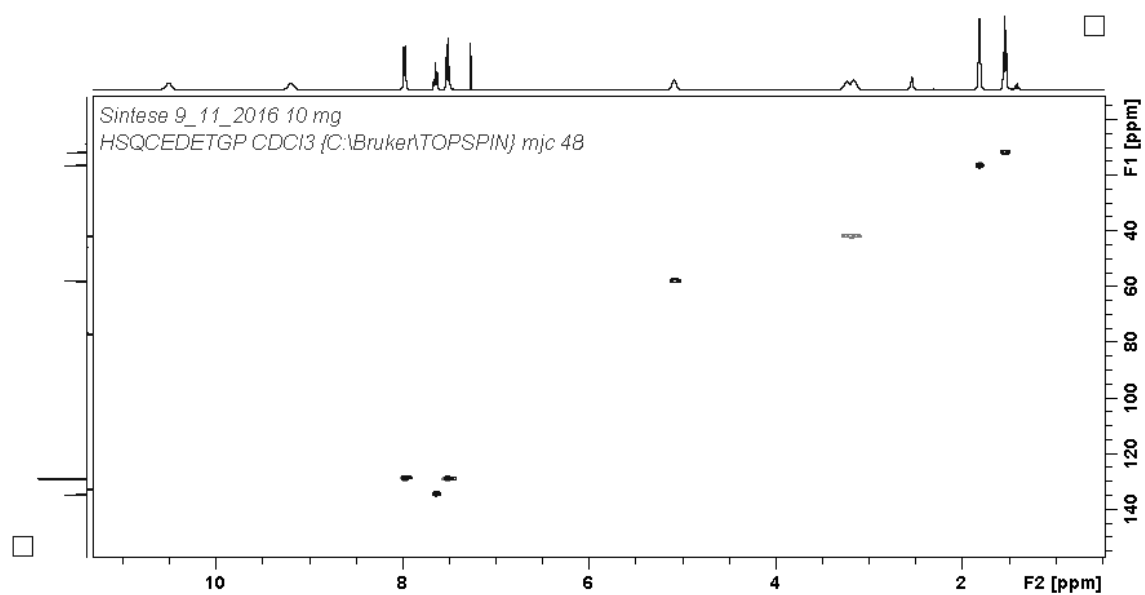
Anexo 7.49 - Espectro de COSY da NEC (13).



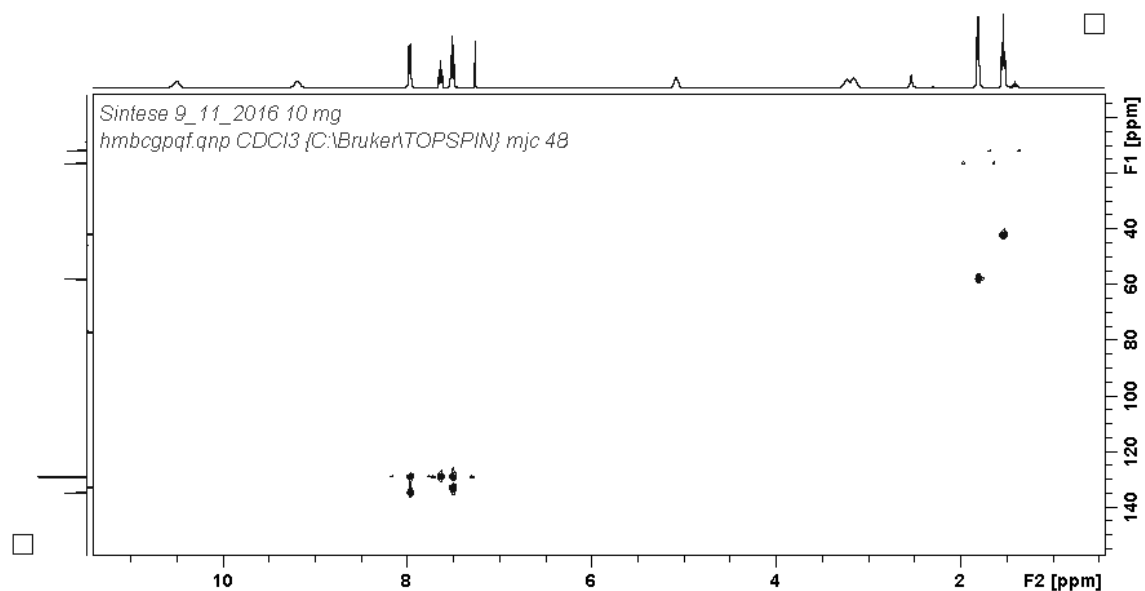
Anexo 7.50 - Espectro de APT ^{13}C da NEC (13).



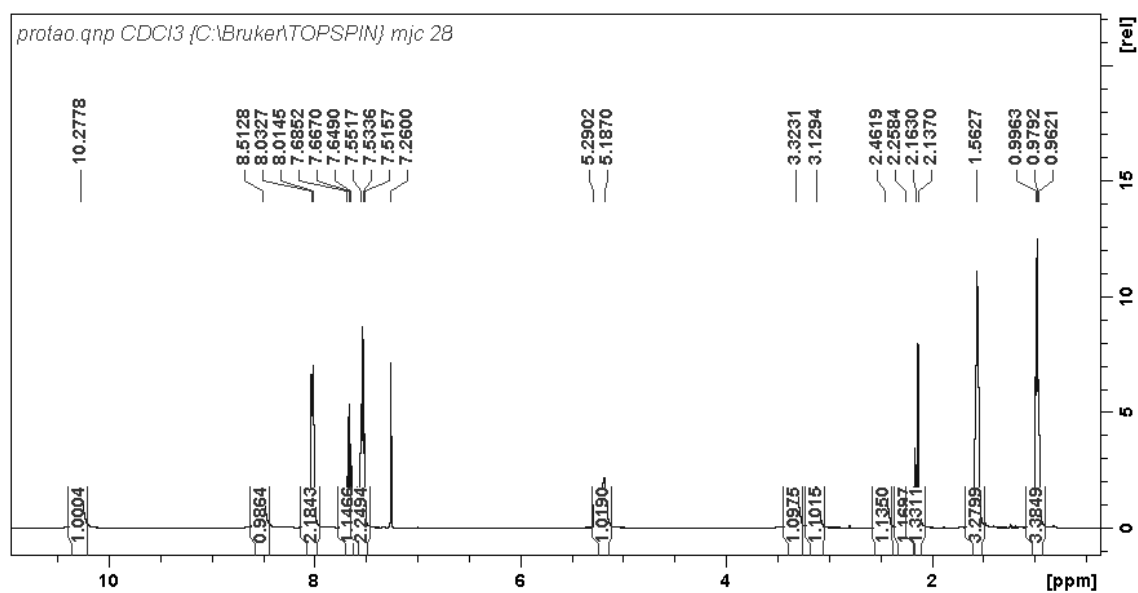
Anexo 7.51 - Espectro de HSQC-edit da NEC (13).



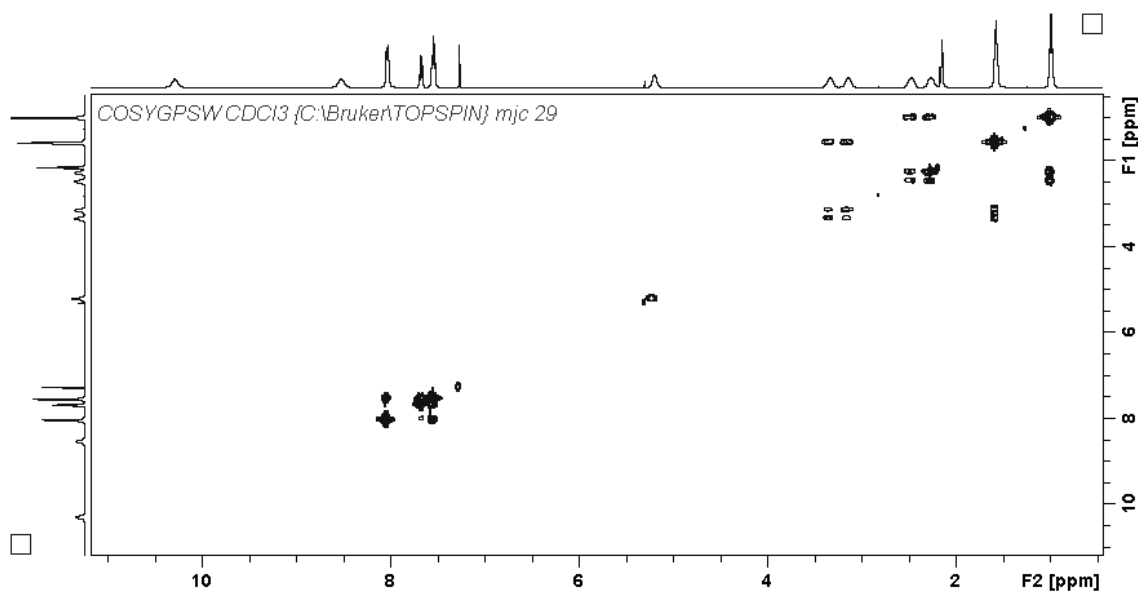
Anexo 7.52 - Espectro de HMBC da NEC (13).



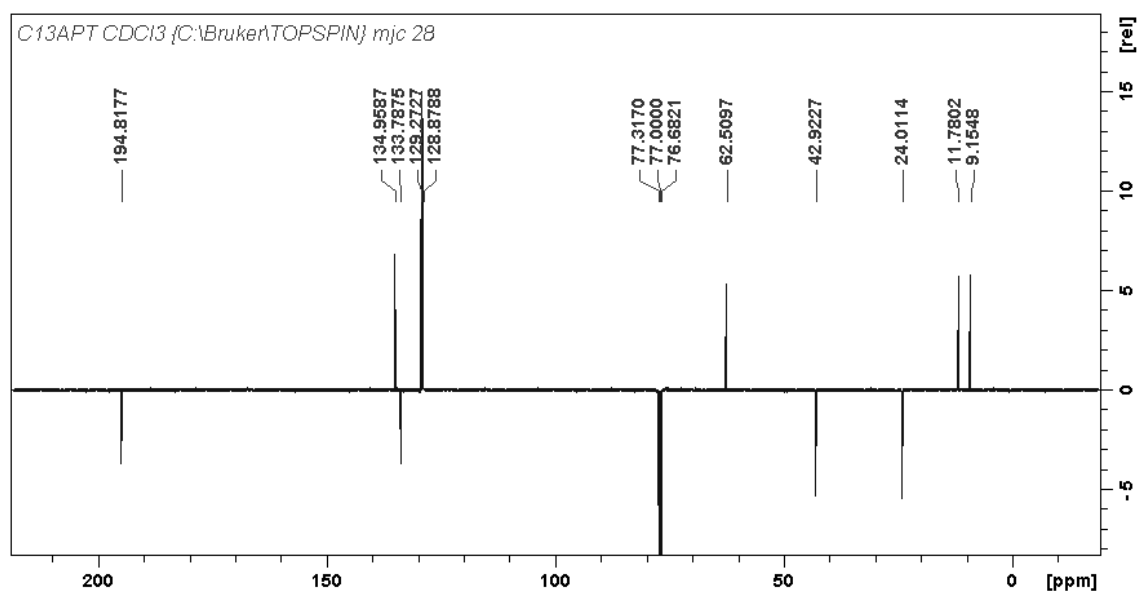
Anexo 7.53 - Espectro de RMN ^1H da NEB (**14**).



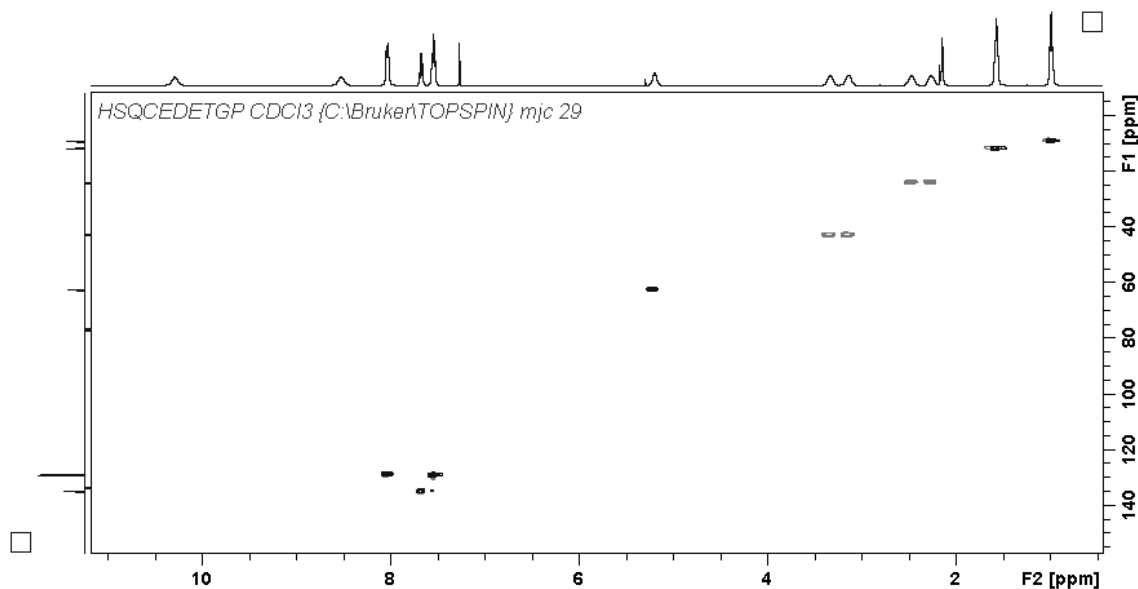
Anexo 7.54 - Espectro de COSY da NEB (**14**).



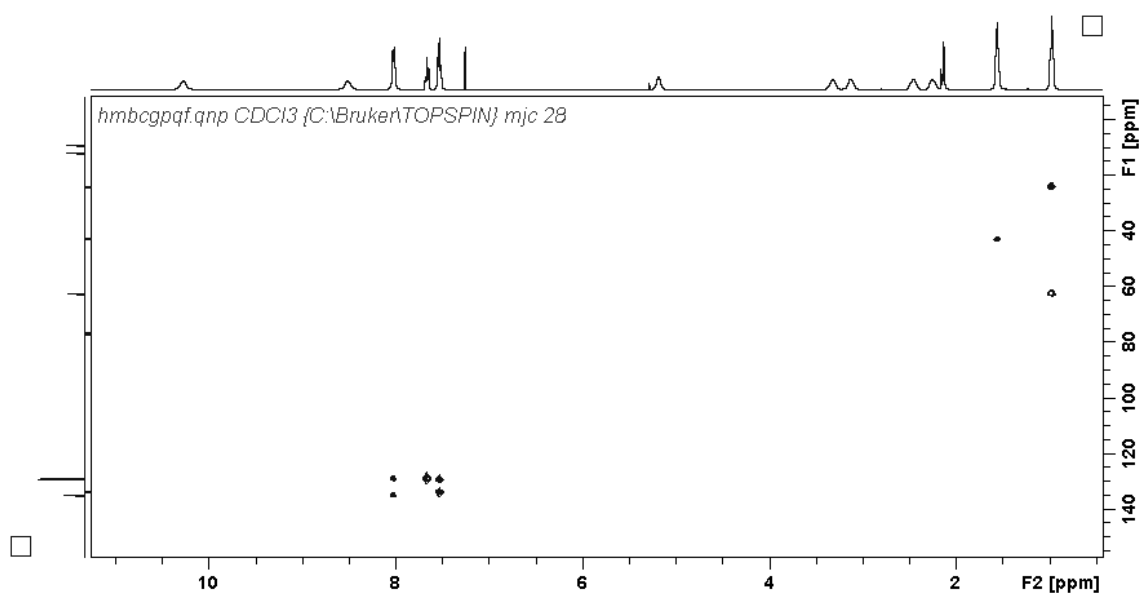
Anexo 7.55 - Espectro de APT ^{13}C da NEB (**14**).



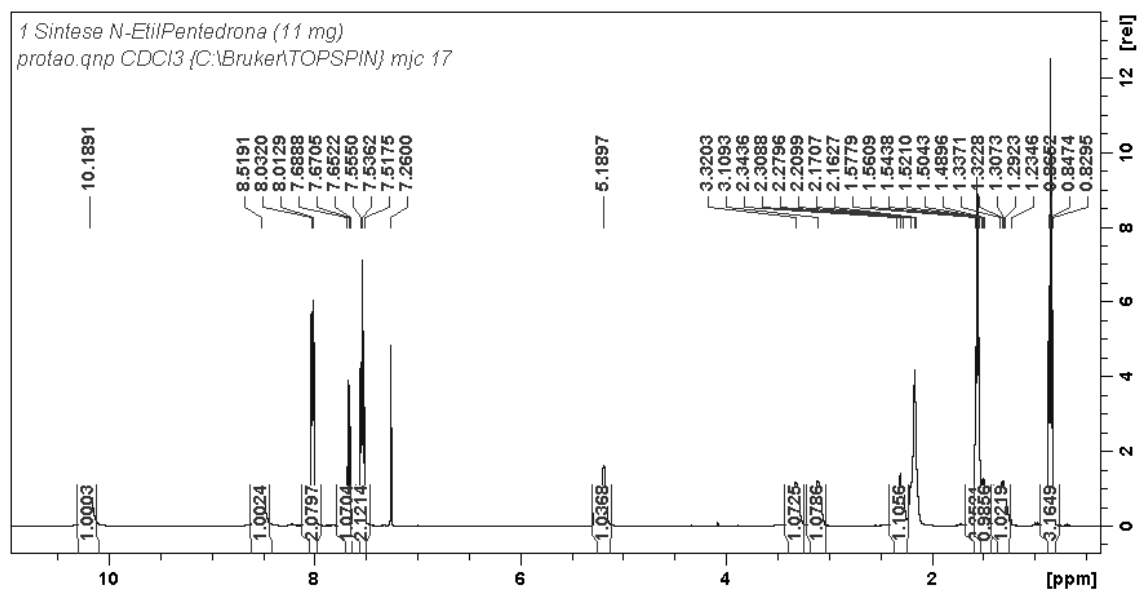
Anexo 7.56 - Espectro de HSQC-edit da NEB (**14**).



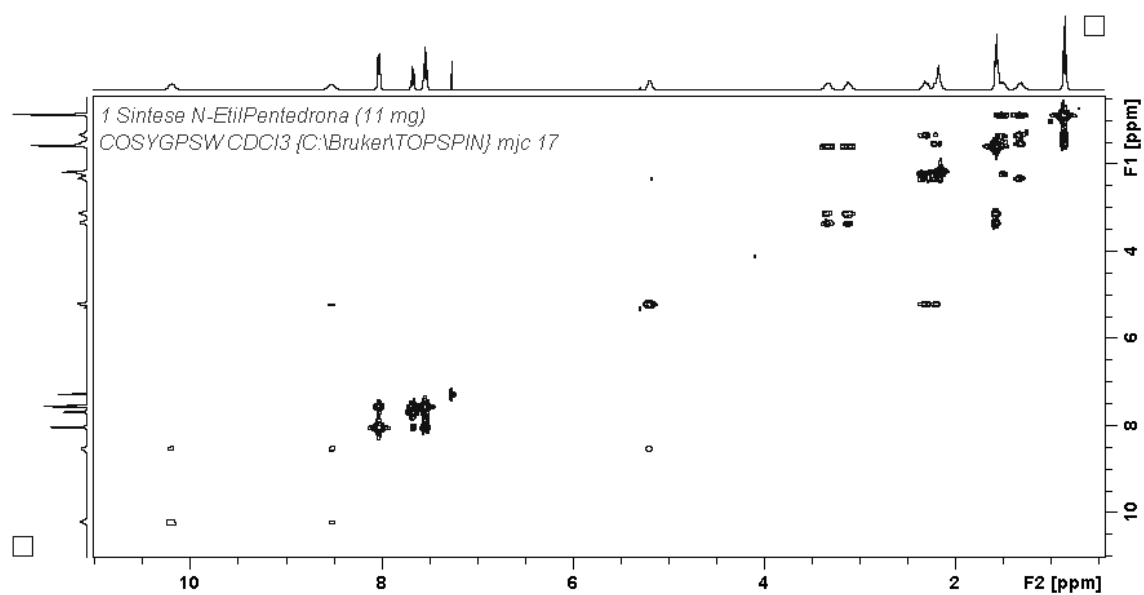
Anexo 7.57 - Espectro de HMBC da NEB (14).



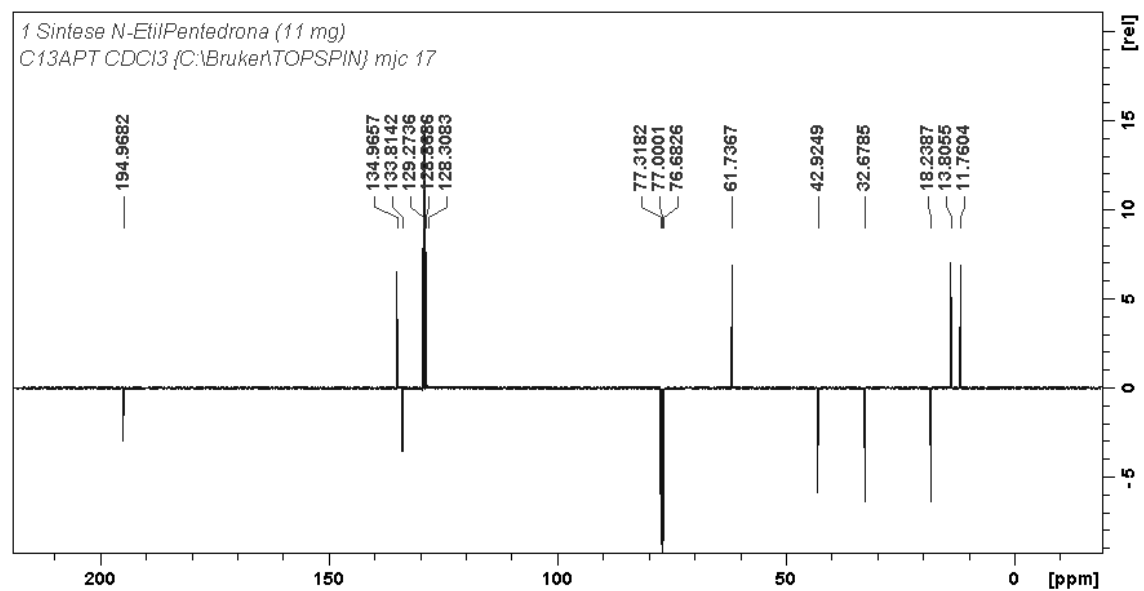
Anexo 7.58 - Espectro de RMN ¹H da NEP (15).



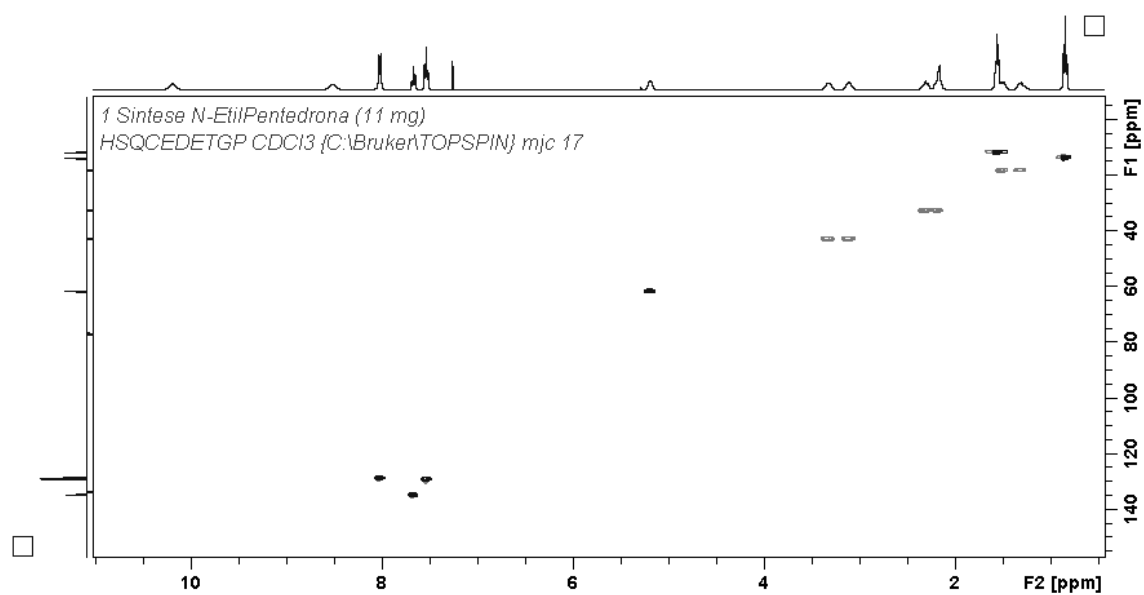
Anexo 7.59 - Espectro de COSY da NEP (15).



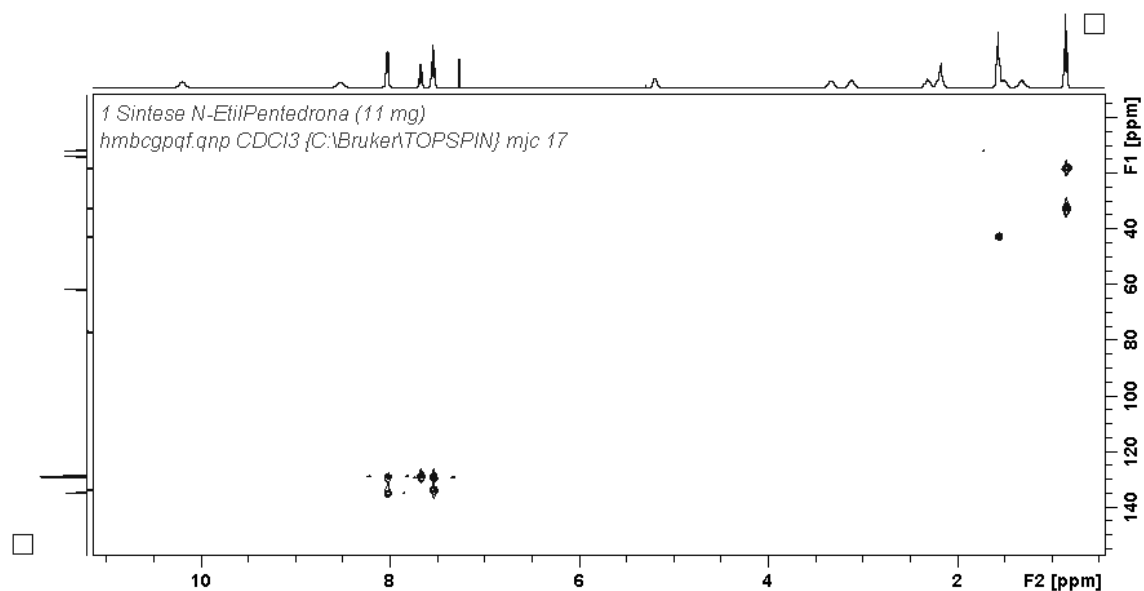
Anexo 7.60 - Espectro de APT ¹³C da NEP (15).



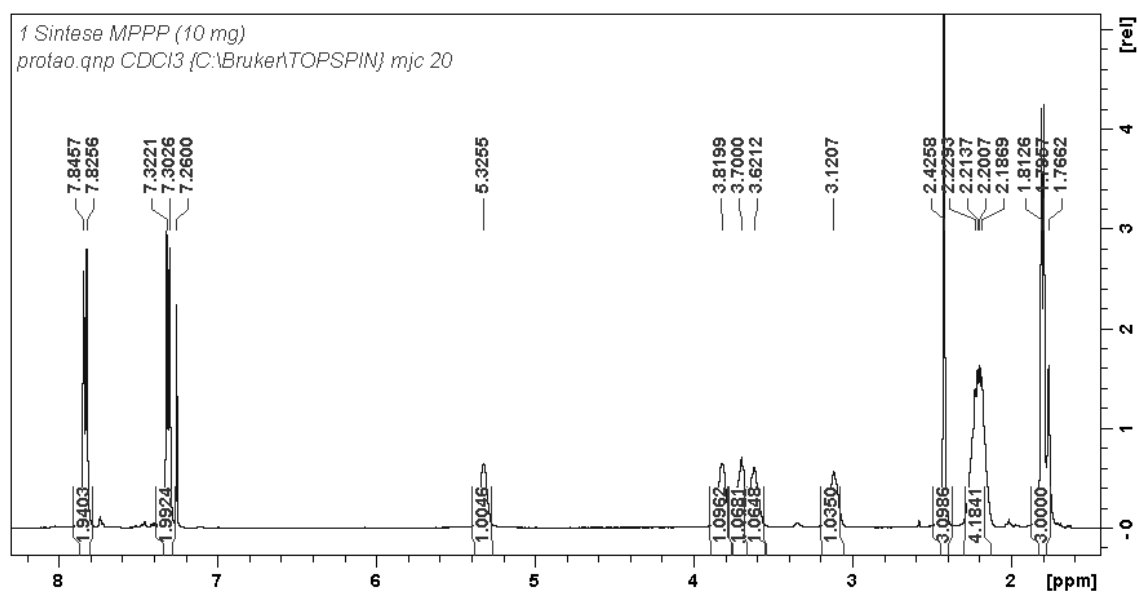
Anexo 7.61 - Espectro de HSQC-edit da NEP (15).



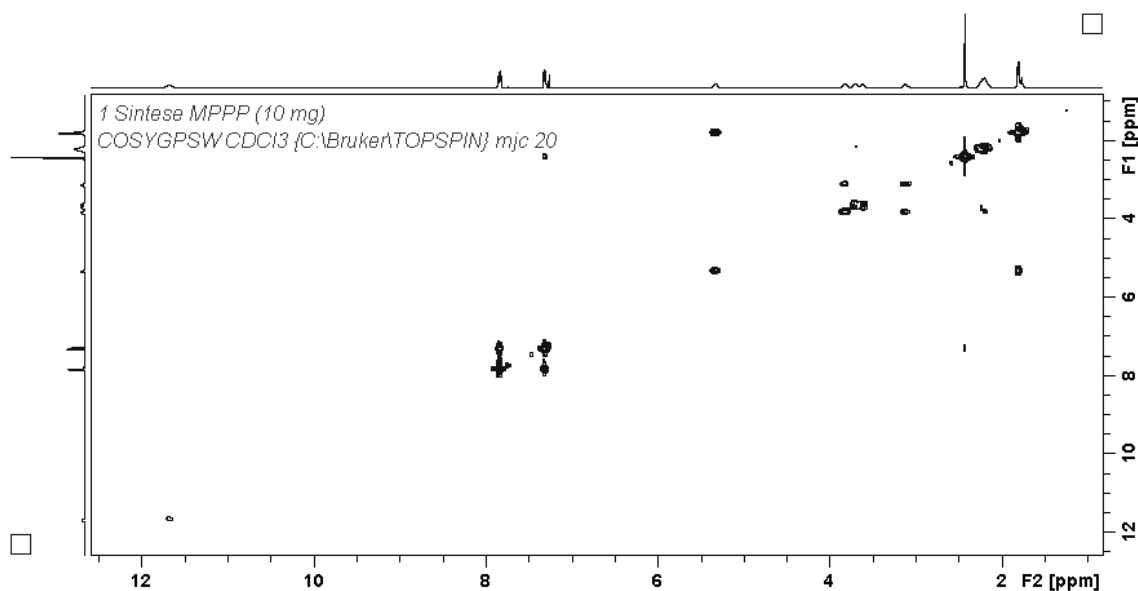
Anexo 7.62 - Espectro de HMBC da NEP (15).



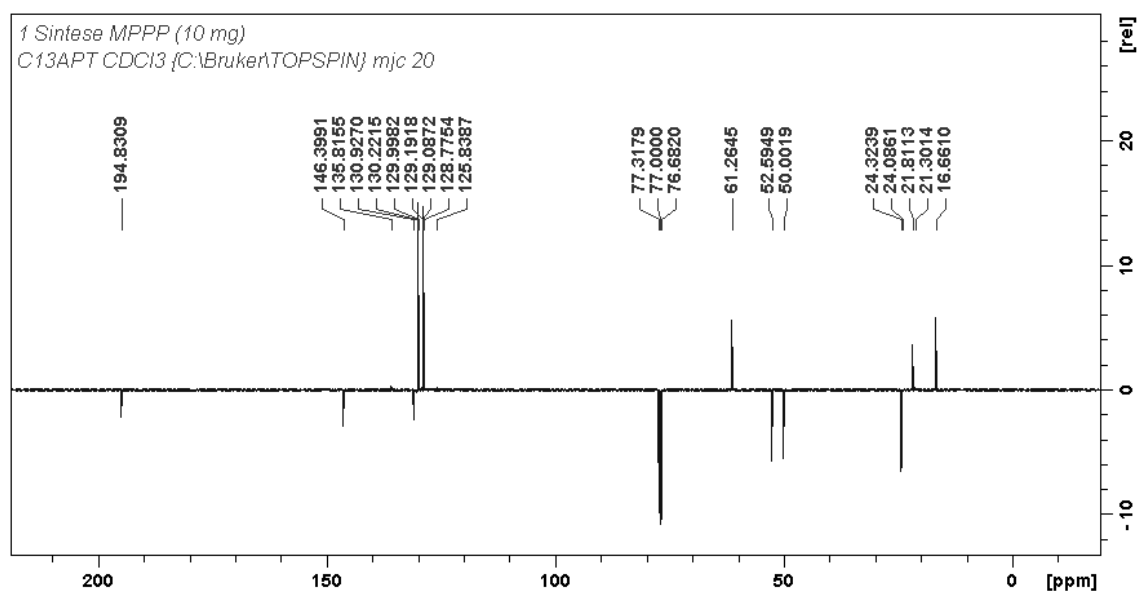
Anexo 7.63 - Espectro de RMN ^1H da MPPP (16).



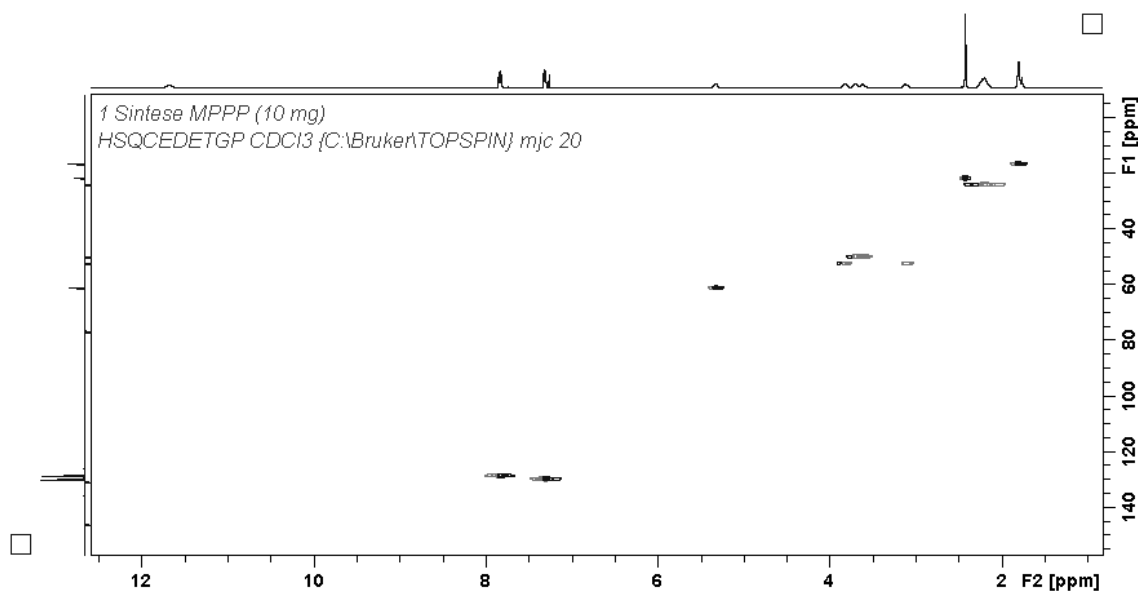
Anexo 7.64 - Espectro de COSY da MPPP (16).



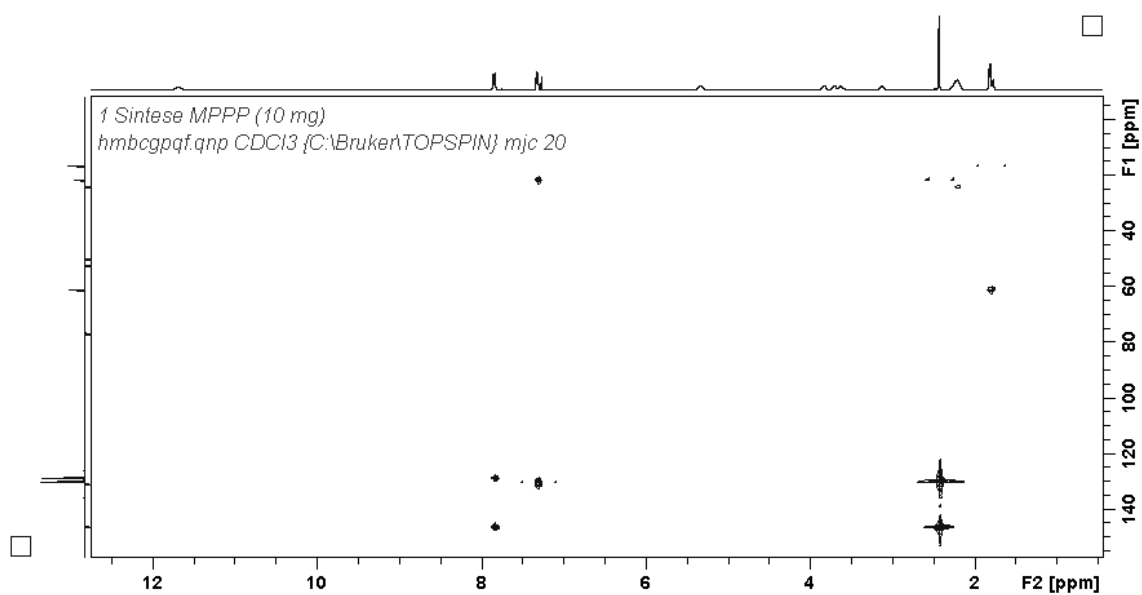
Anexo 7.65 - Espectro de APT ^{13}C da MPPP (16).



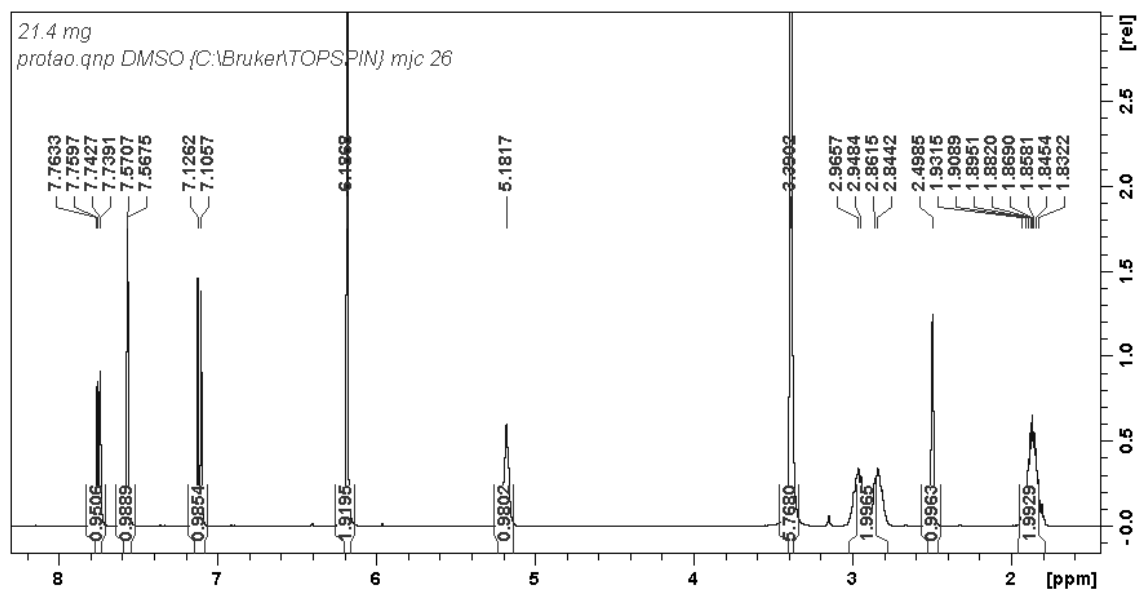
Anexo 7.66 - Espectro de HSQC-edit da MPPP (16).



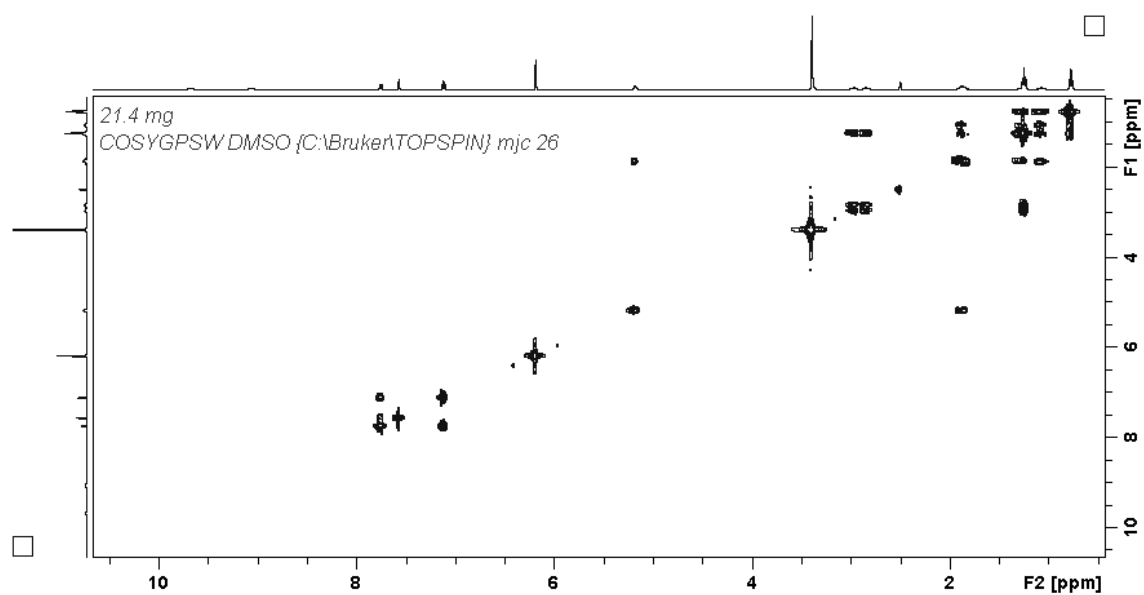
Anexo 7.67 - Espectro de HMBC da MPPP (16).



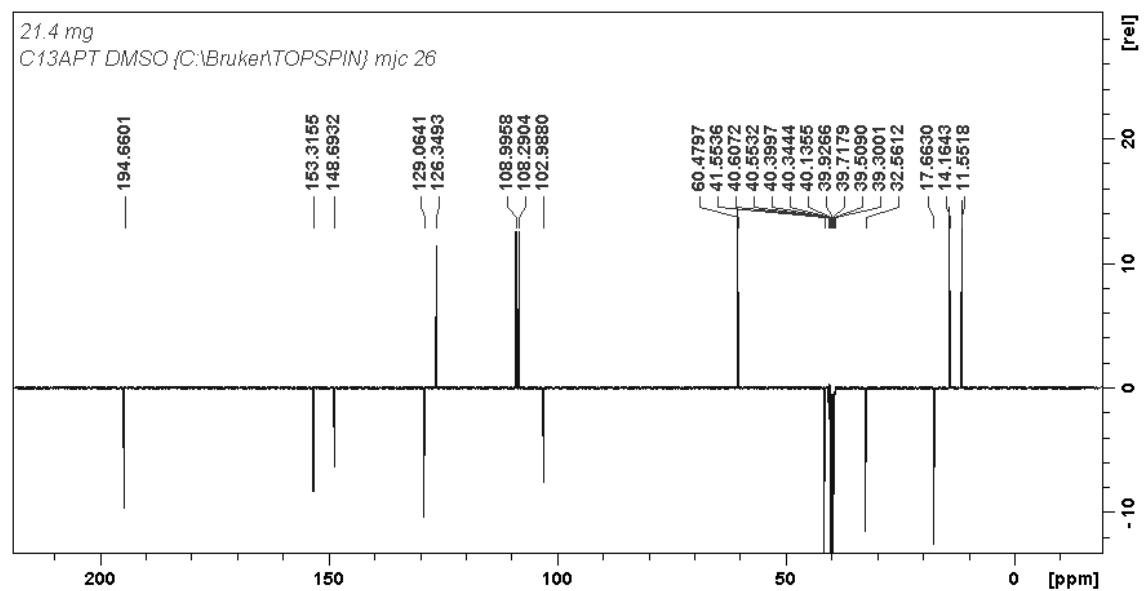
Anexo 7.68 - Espectro de RMN ¹H da catinona apreendida.



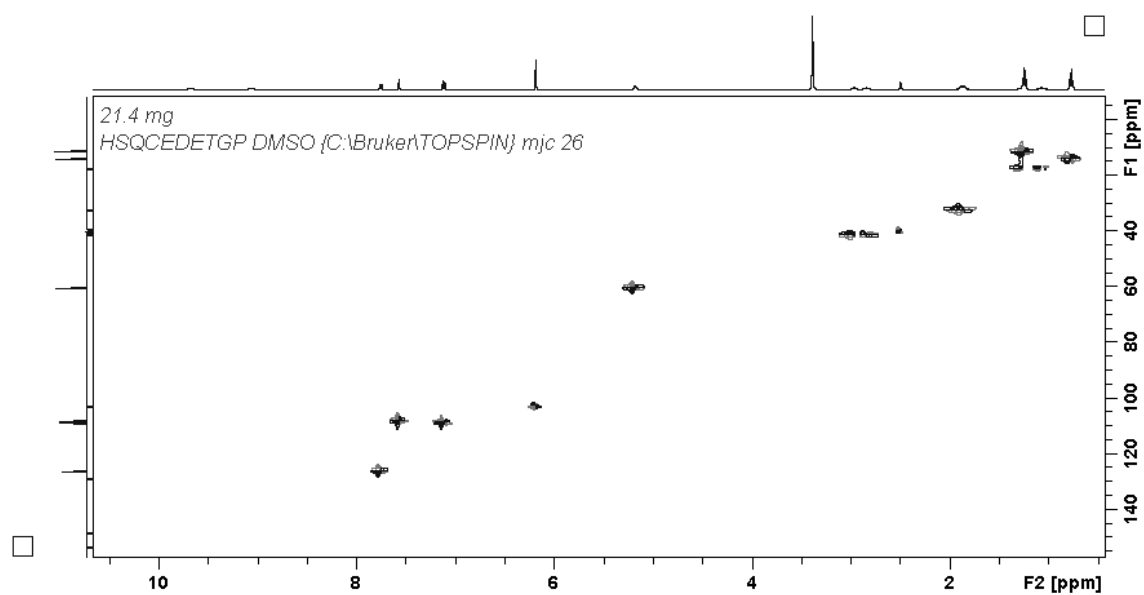
Anexo 7.69 - Espectro de COSY da catinona apreendida.



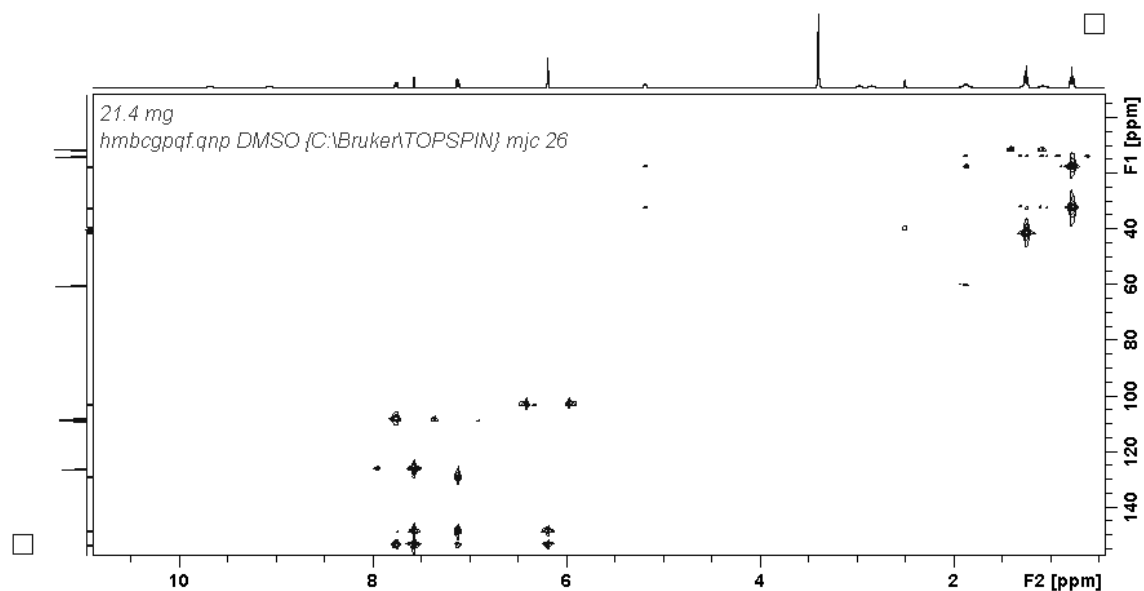
Anexo 7.70 - Espectro de APT ^{13}C da catinona apreendida.



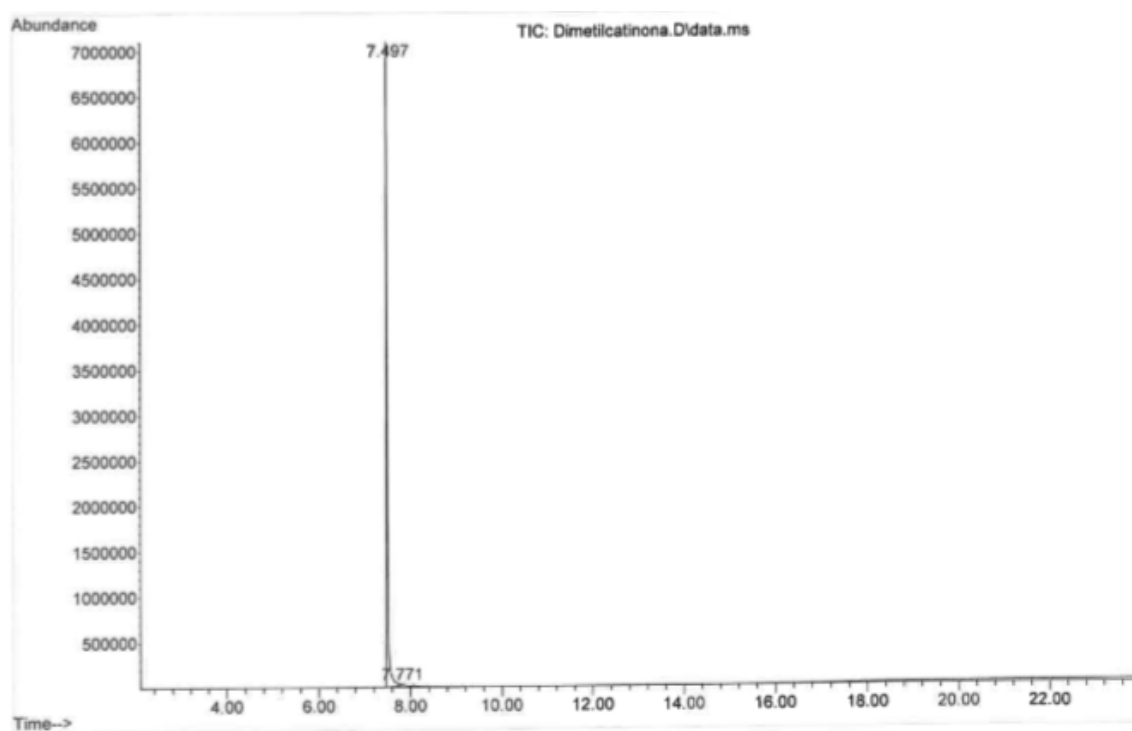
Anexo 7.71 - Espectro de HSQC-edit da catinona apreendida.



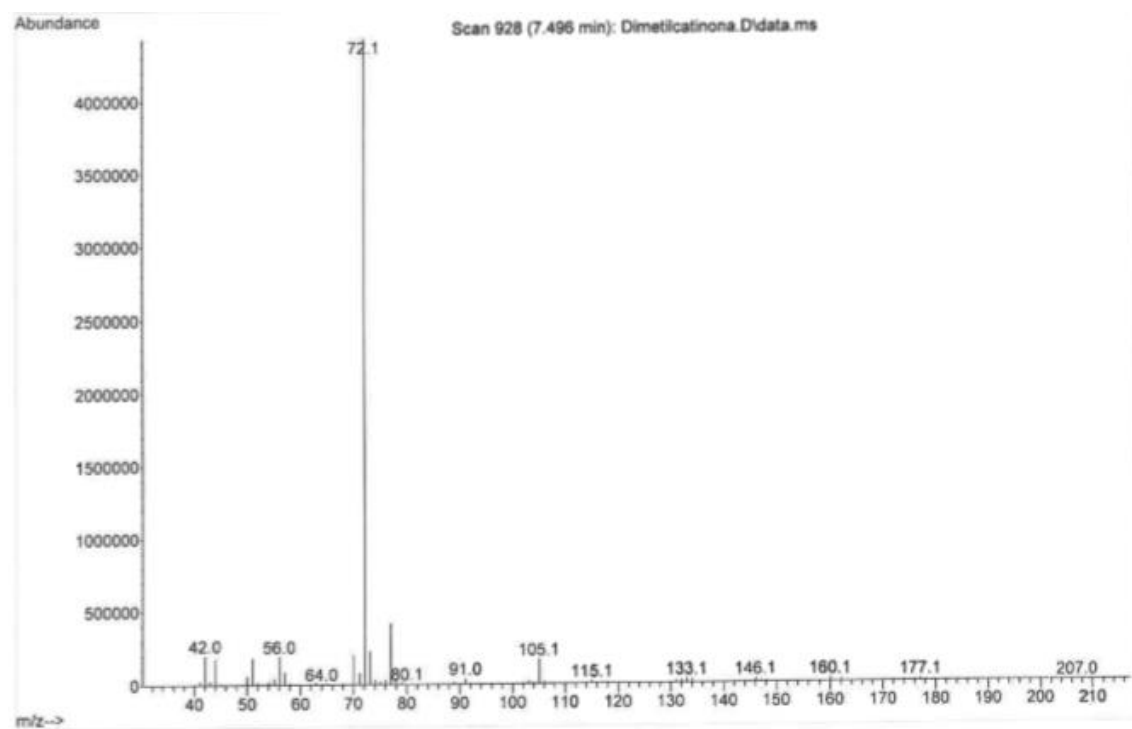
Anexo 7.72 - Espectro de HMBC da catinona apreendida.



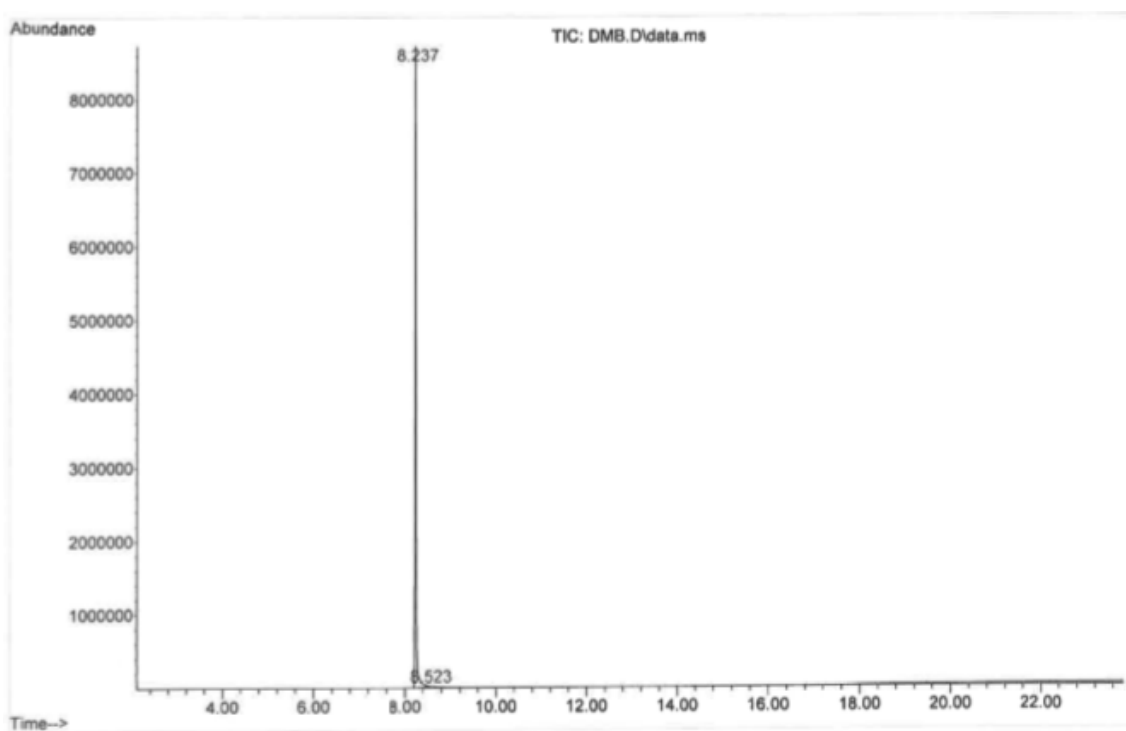
Anexo 7.73 - Cromatograma GC-MS da DMC (5).



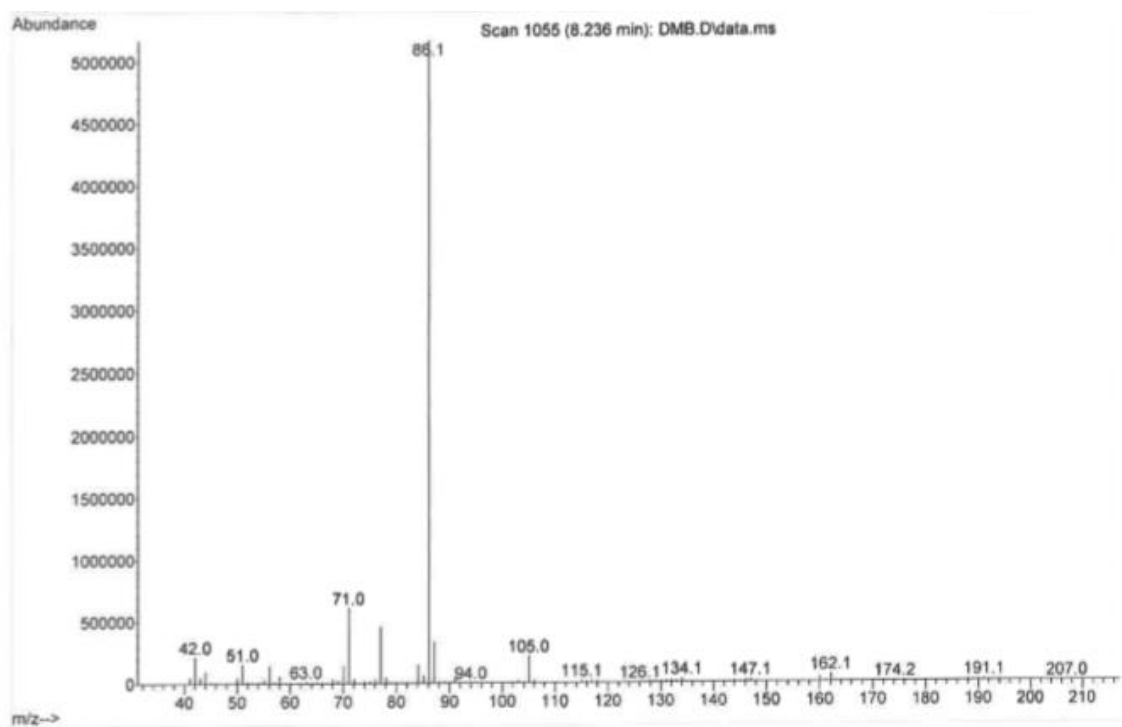
Anexo 7.74 - Espectro de massa da DMC (5).



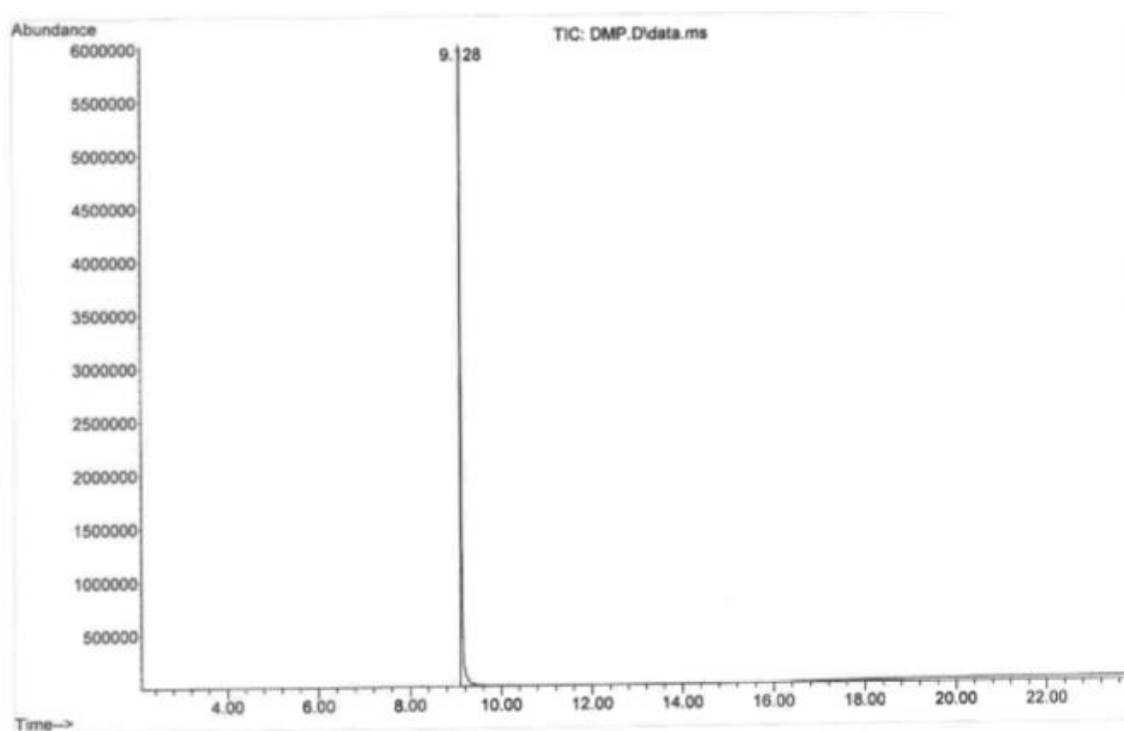
Anexo 7.75 - Cromatograma GC-MS da DMB (6).



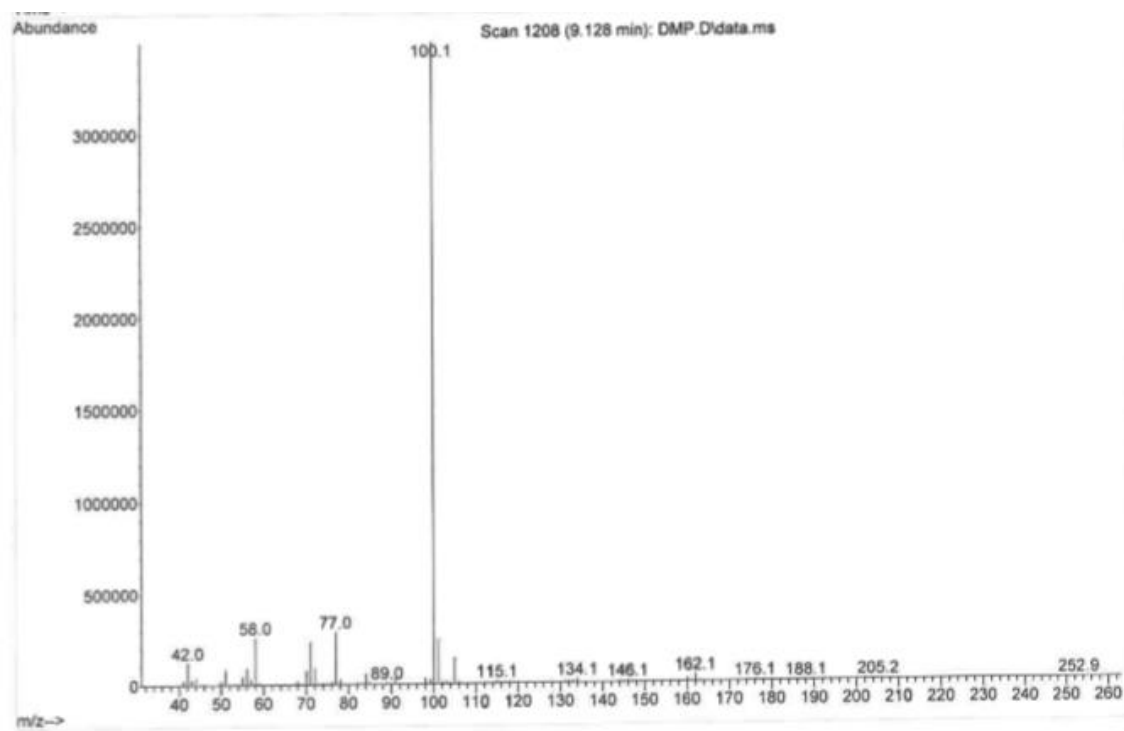
Anexo 7.76 - Espectro de massa da DMB (6).



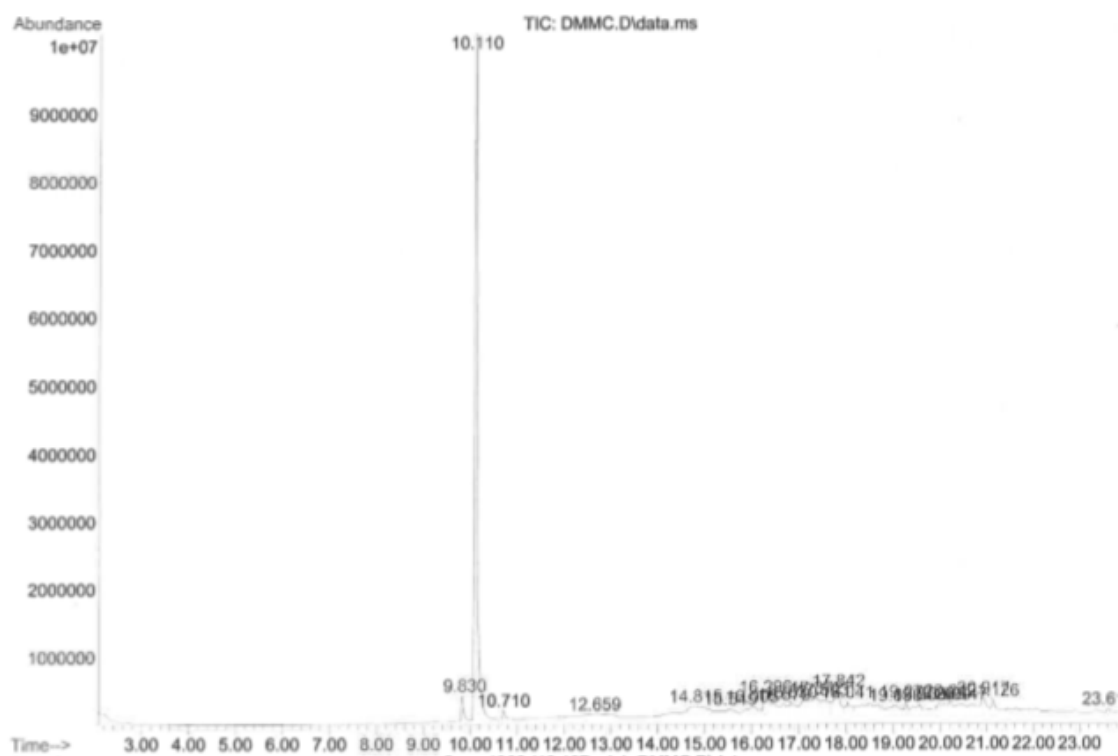
Anexo 7.77 - Cromatograma GC-MS da DMP (7).



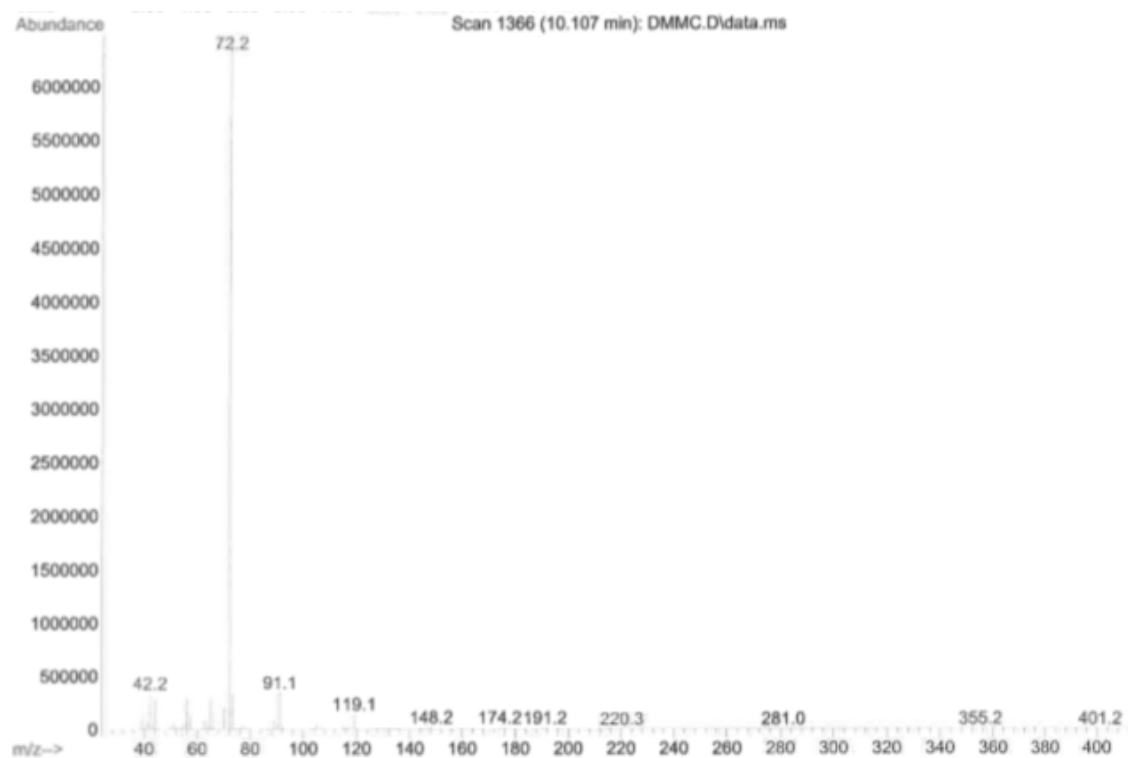
Anexo 7.78 - Espetro de massa da DMP (7).



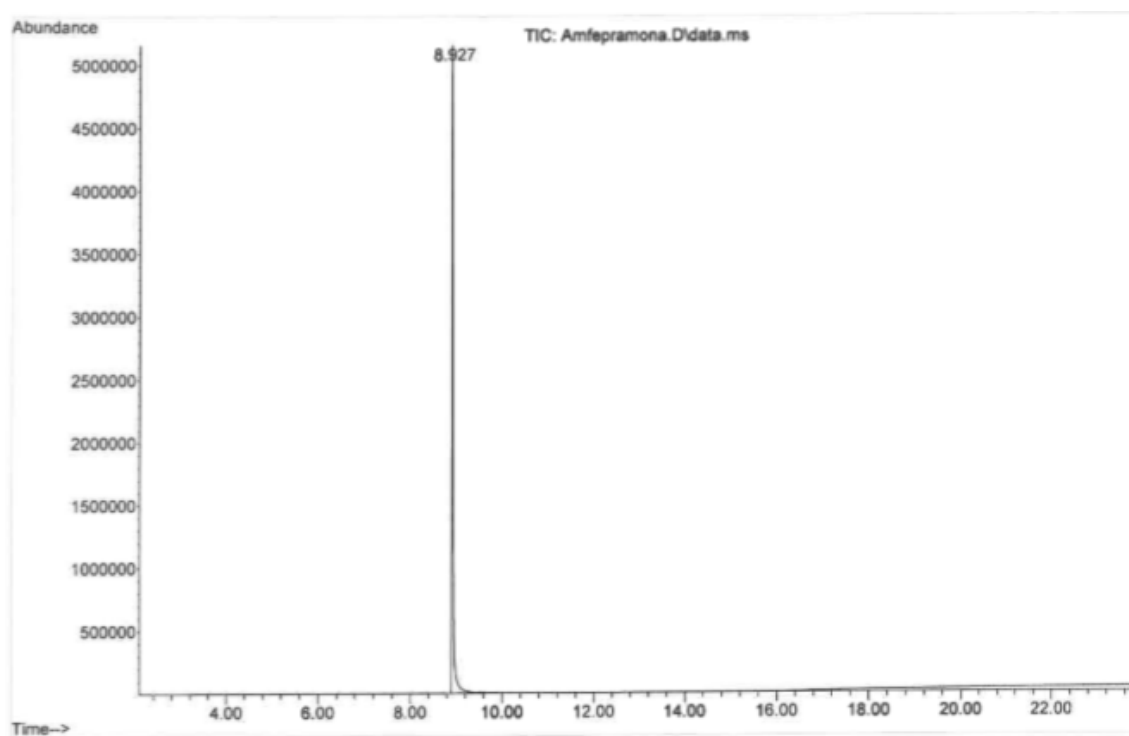
Anexo 7.79 - Cromatograma GC-MS da 4-MDMC (8).



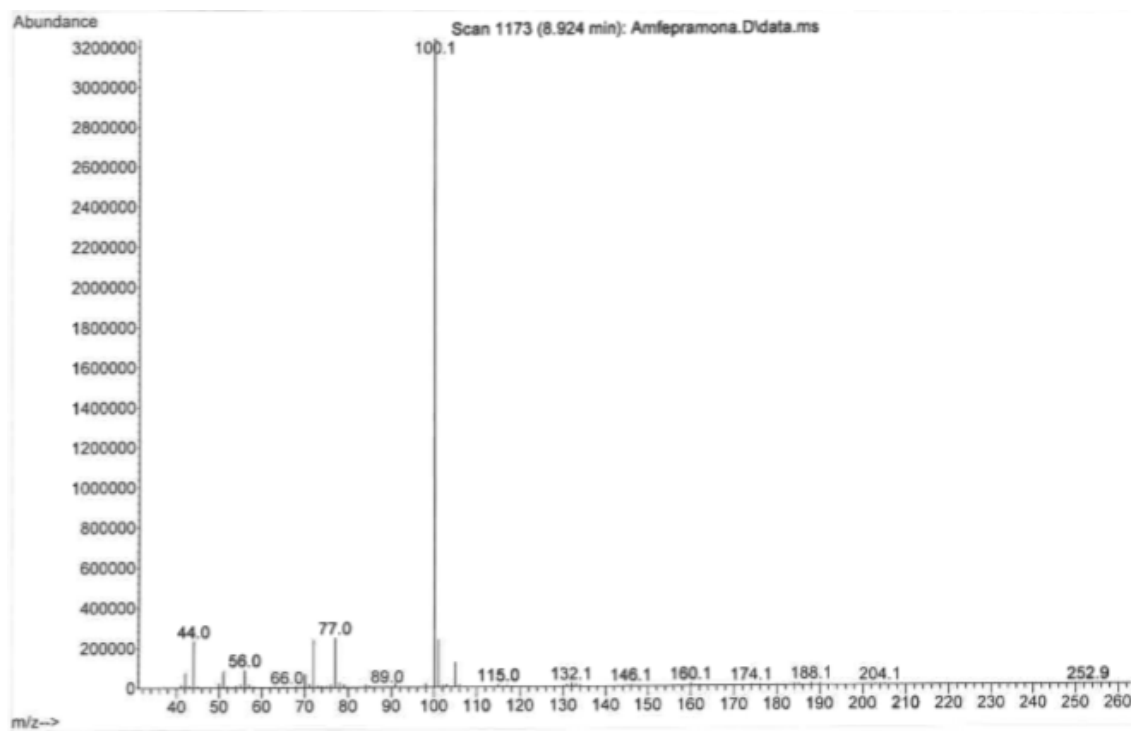
Anexo 7.80 - Espectro de massa da 4-MDMC (8).



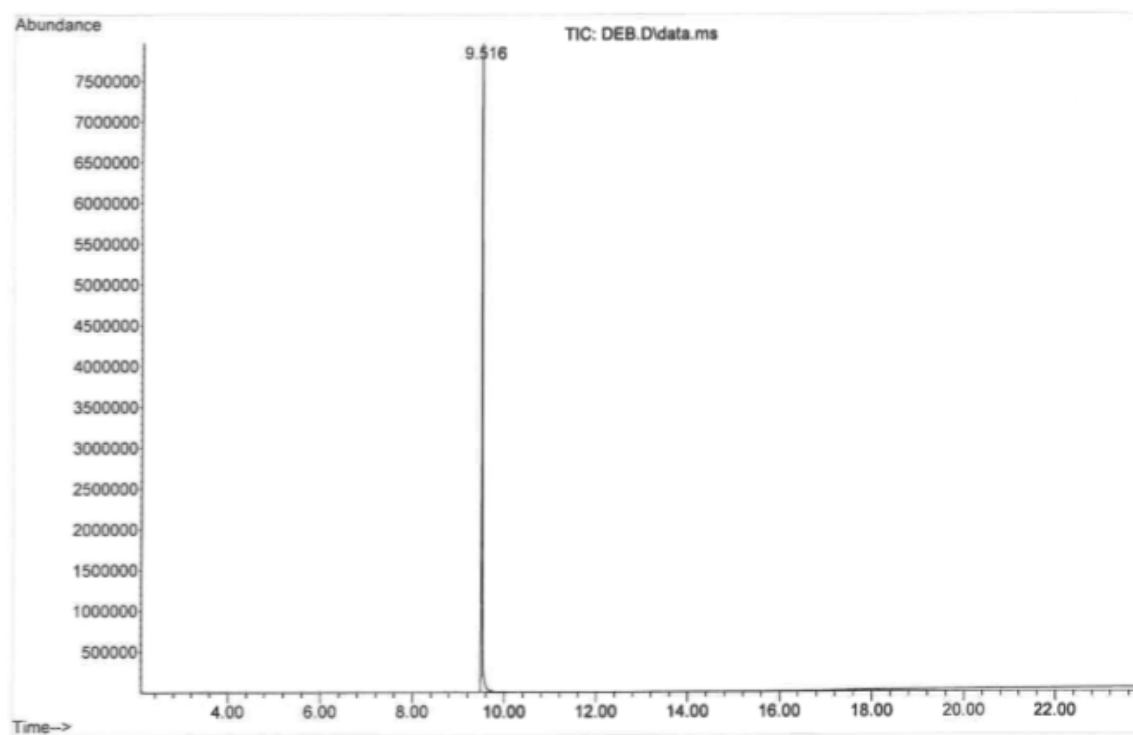
Anexo 7.81 - Cromatograma GC-MS da AFP (9).



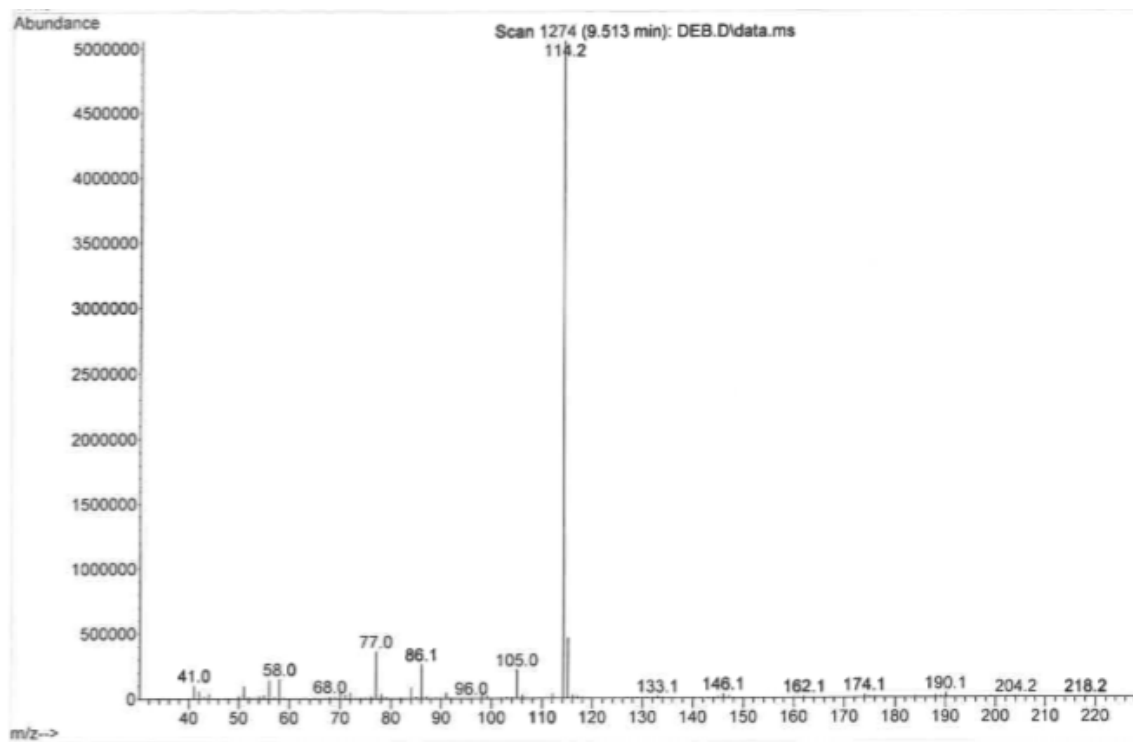
Anexo 7.82 - Espetro de massa da AFP (9).



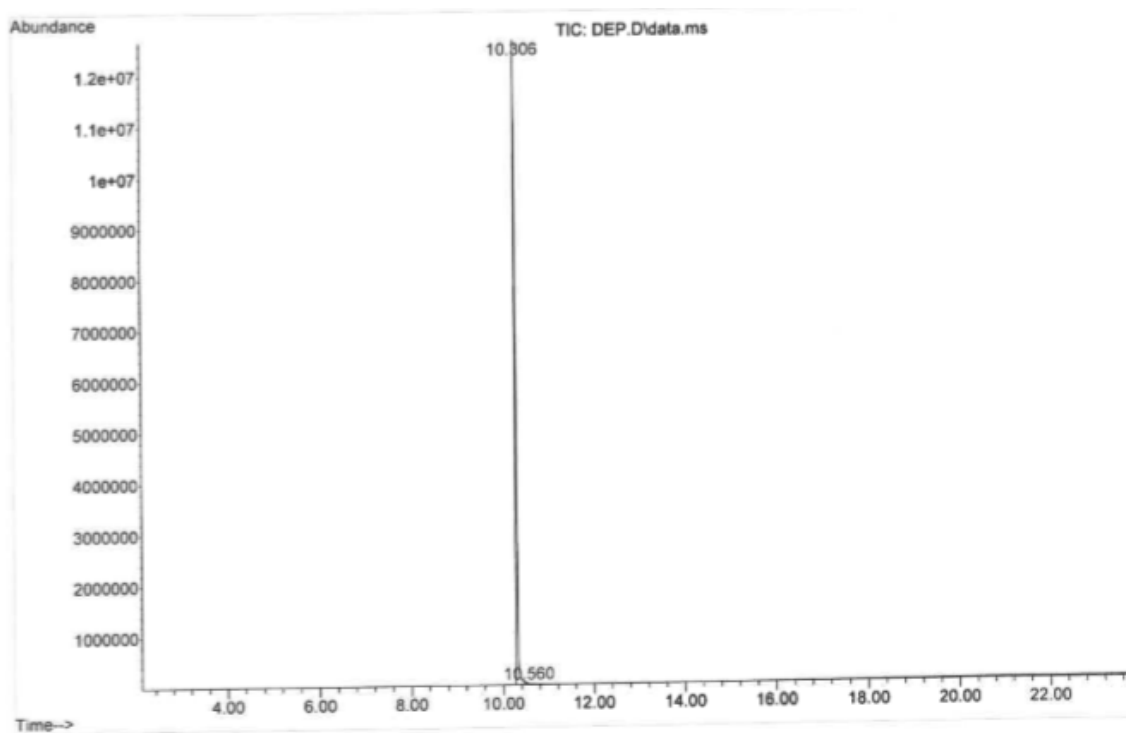
Anexo 7.83 - Cromatograma GC-MS da DEB (10).



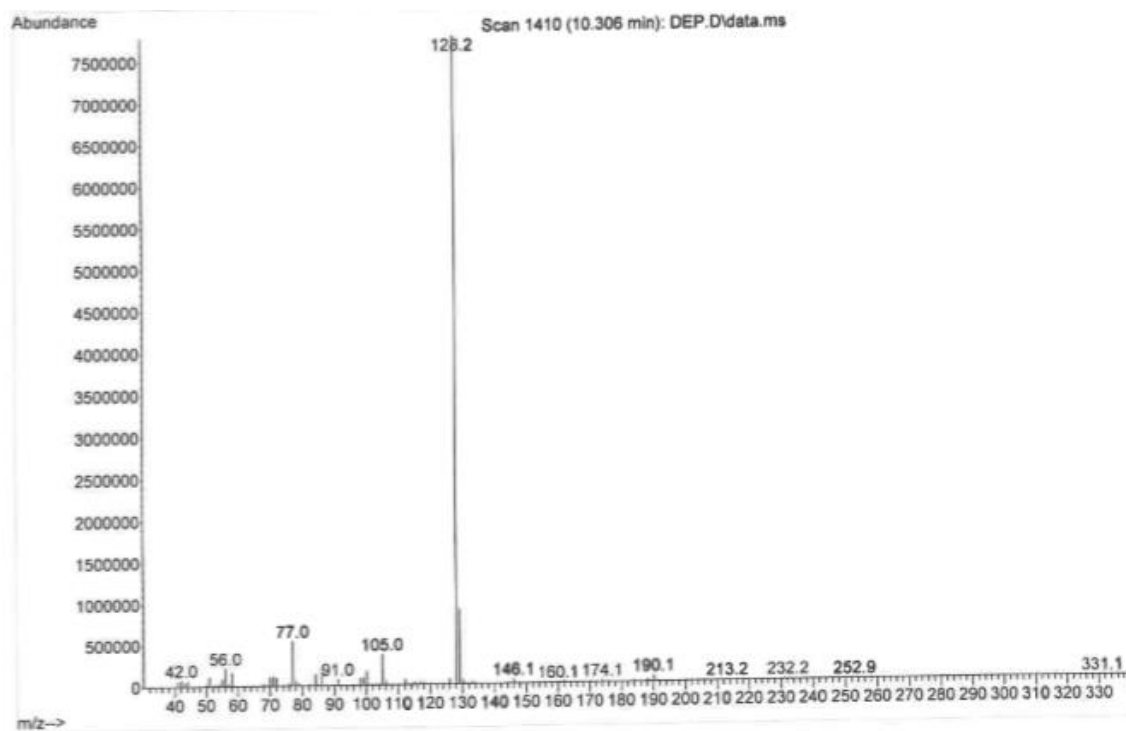
Anexo 7.84 - Espetro de massa da DEB (10).



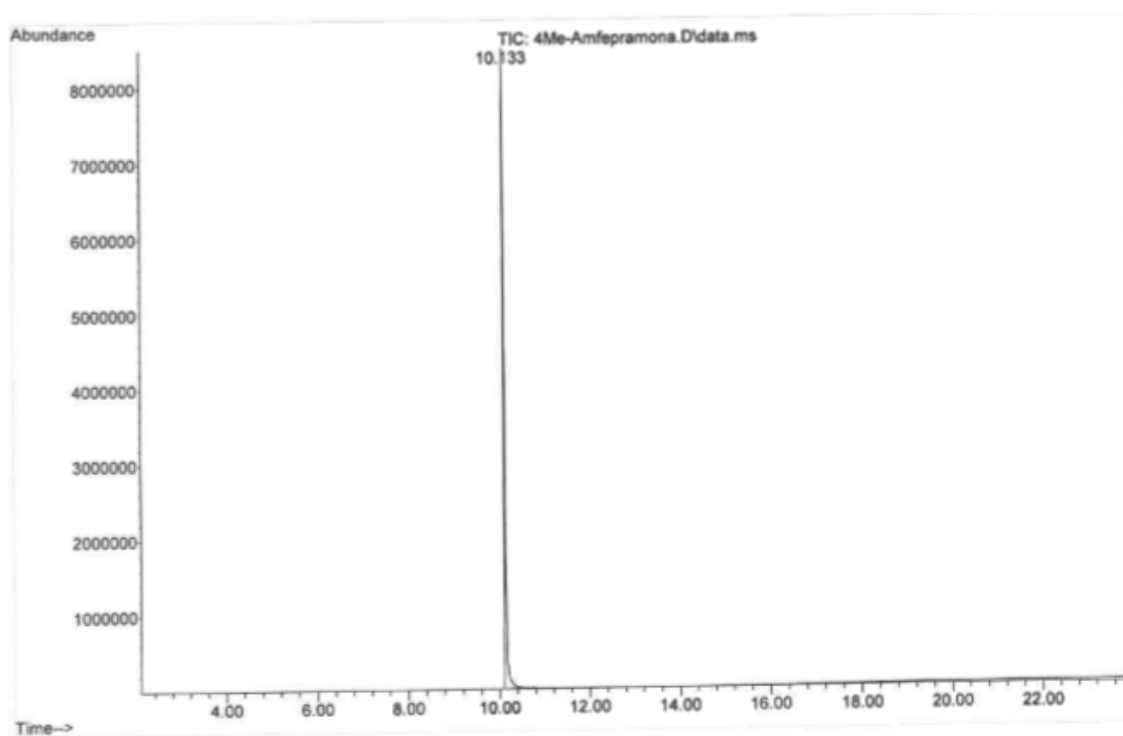
Anexo 7.85 - Cromatograma GC-MS da DEP (II).



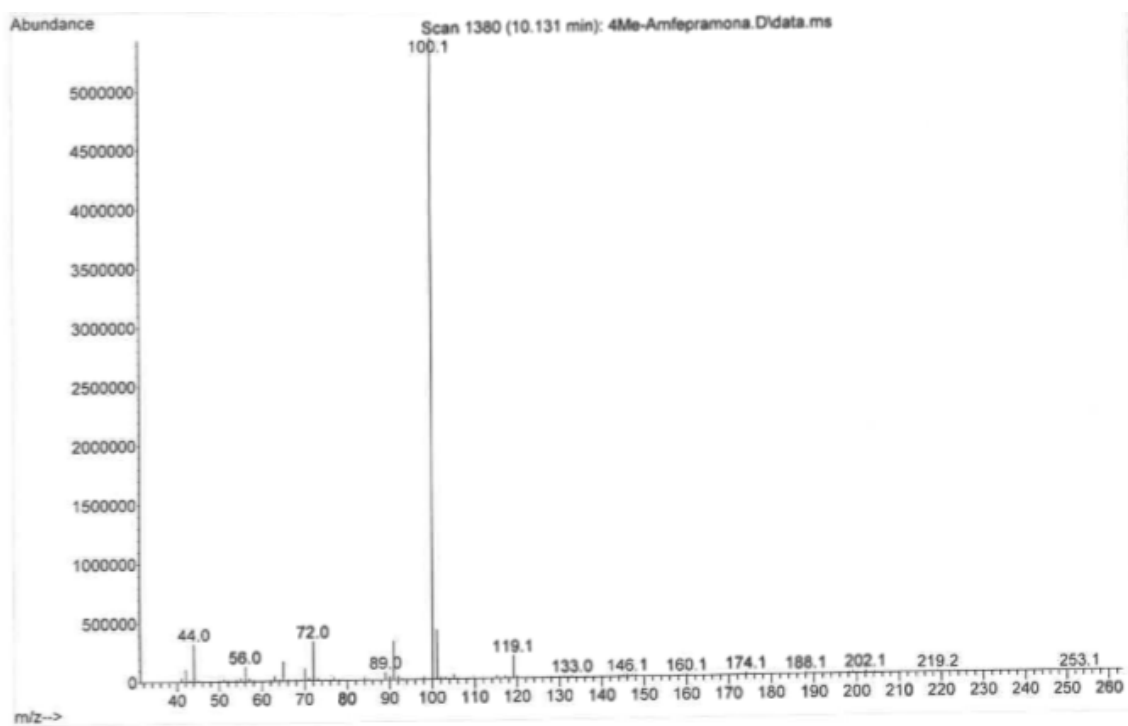
Anexo 7.86 - Espetro de massa da DEP (II).



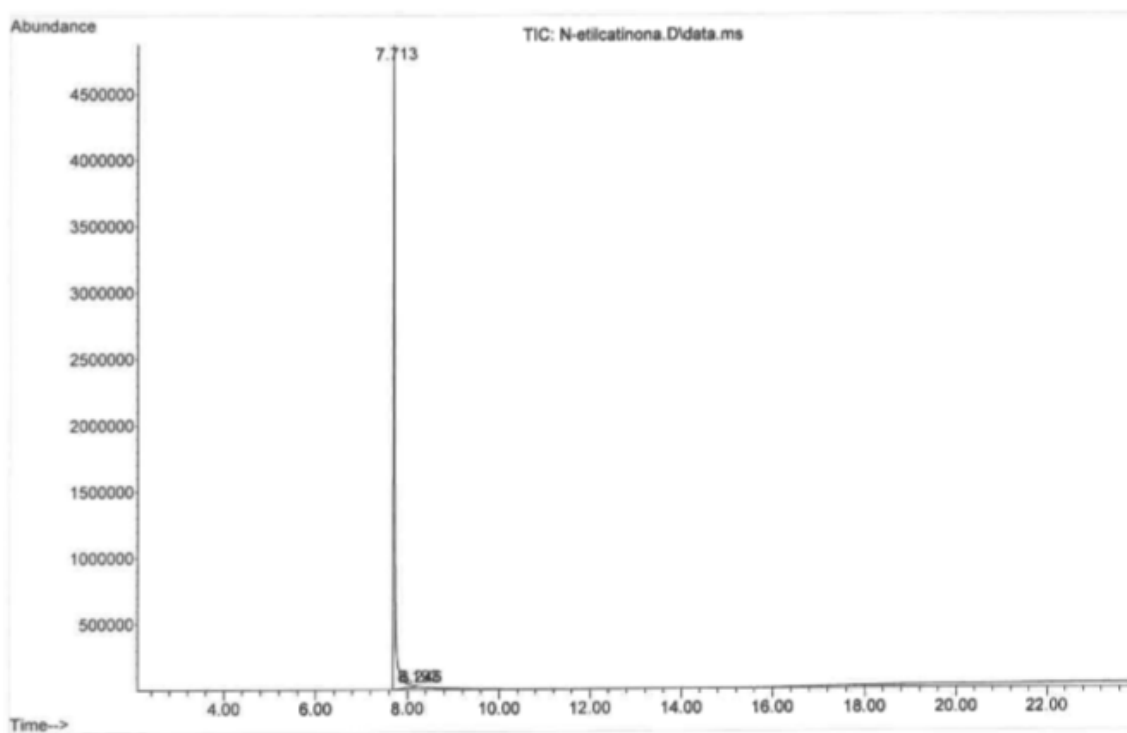
Anexo 7.87 - Cromatograma GC-MS da 4-MAFP (I2).



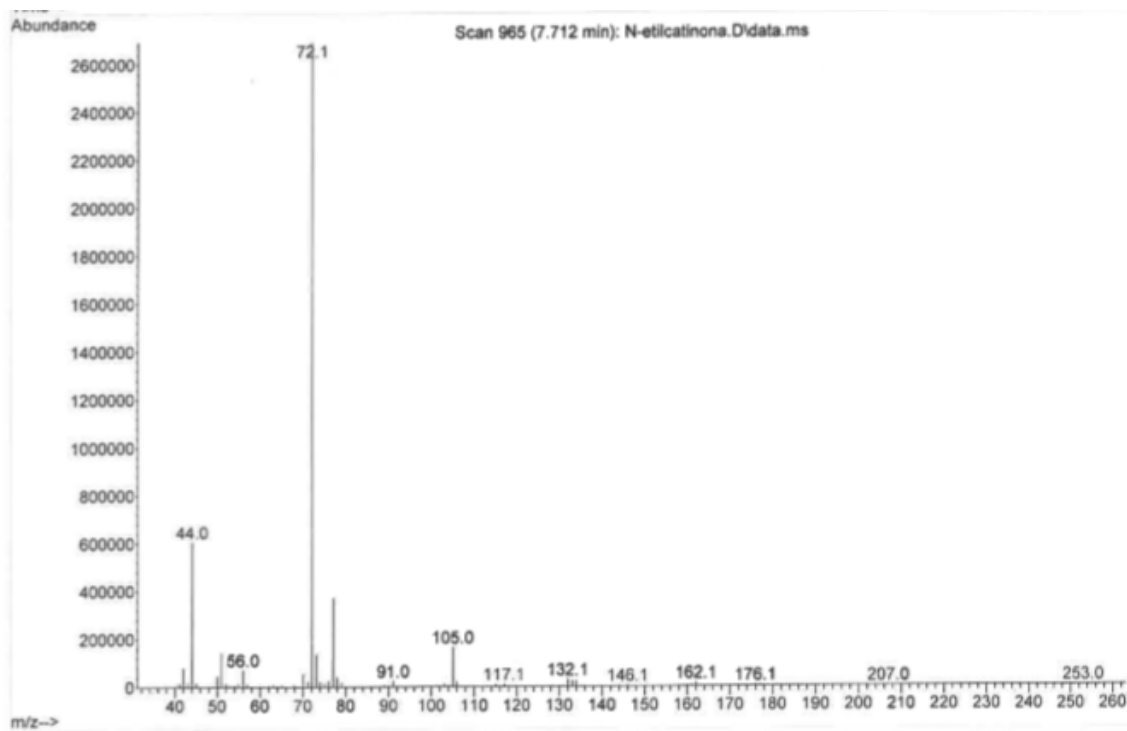
Anexo 7.88 - Espetro de massa da 4-MAFP (I2).



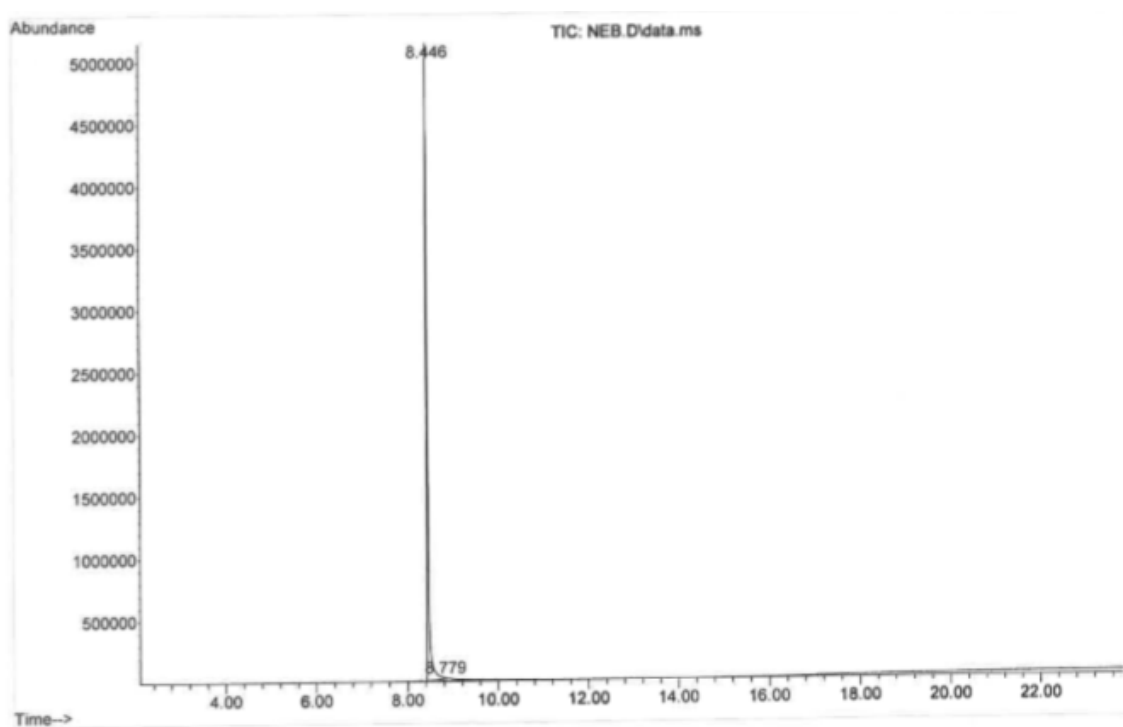
Anexo 7.89 - Cromatograma GC-MS da NEC (I3).



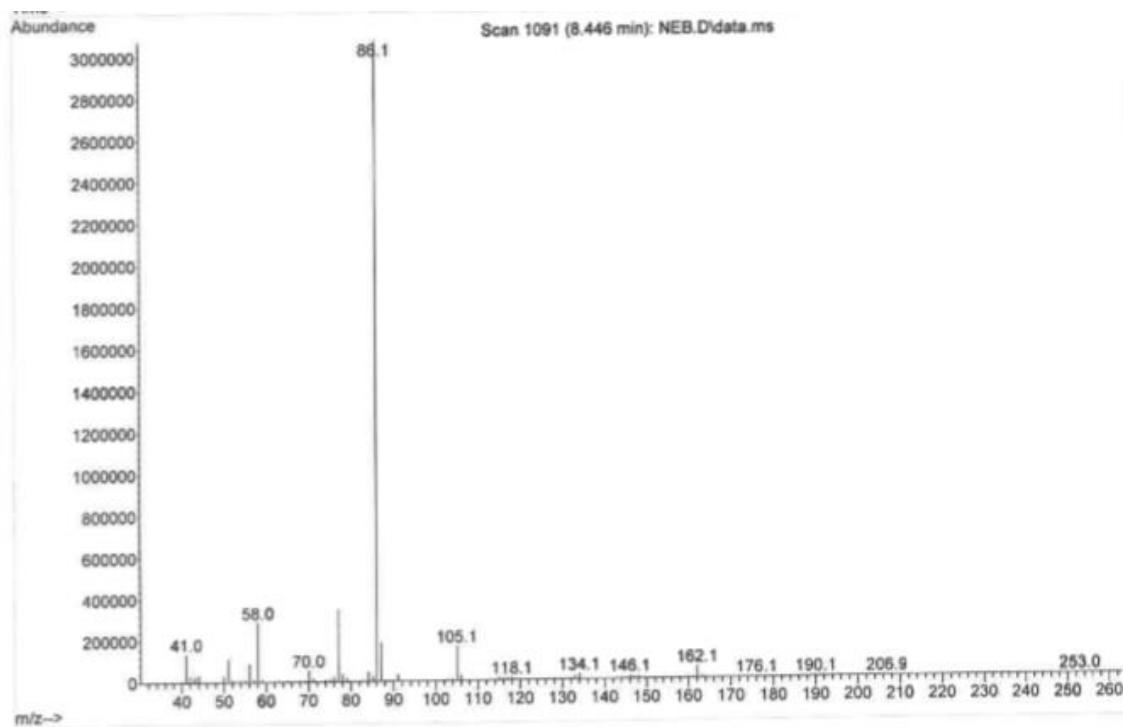
Anexo 7.90 - Espectro de massa da NEC (I3).



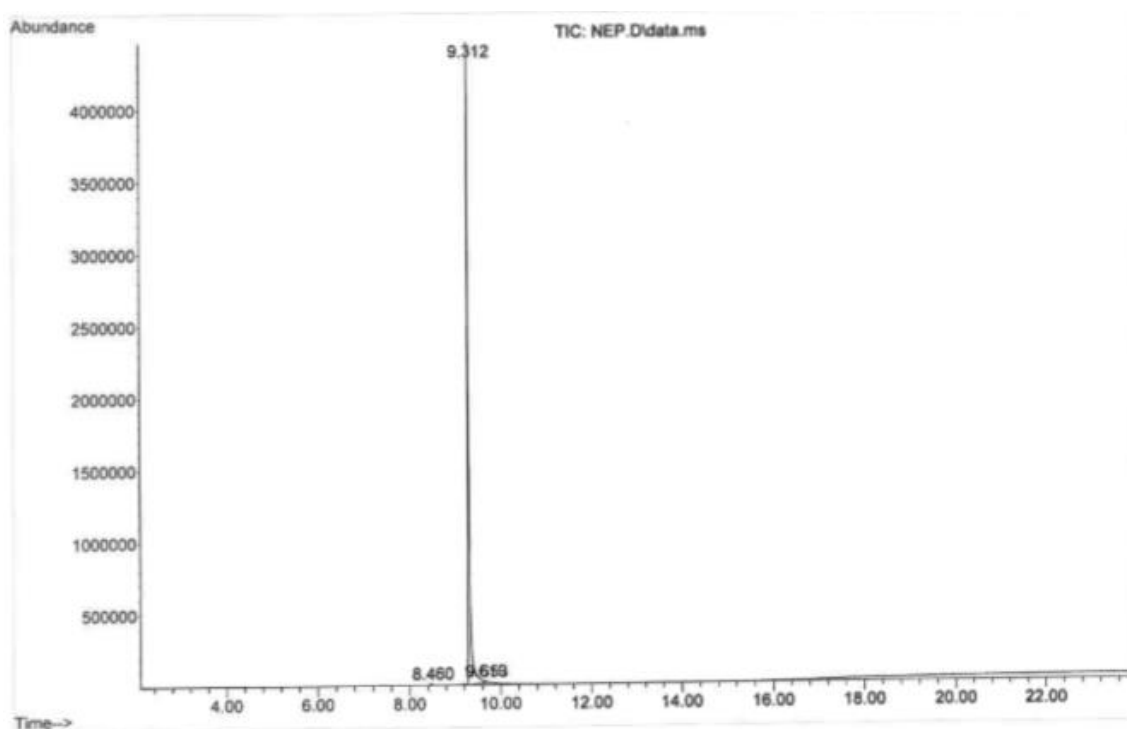
Anexo 7.91 – Cromatograma GC-MS da NEB (14).



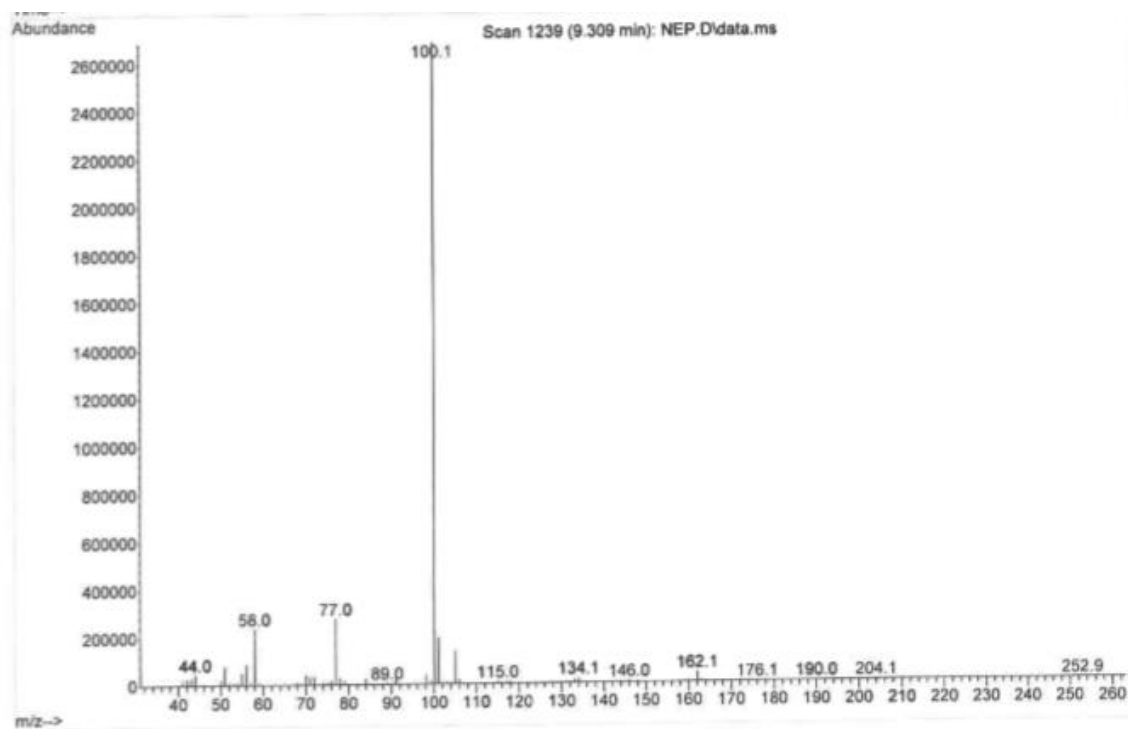
Anexo 7.92 - Espetro de massa da NEB (14).



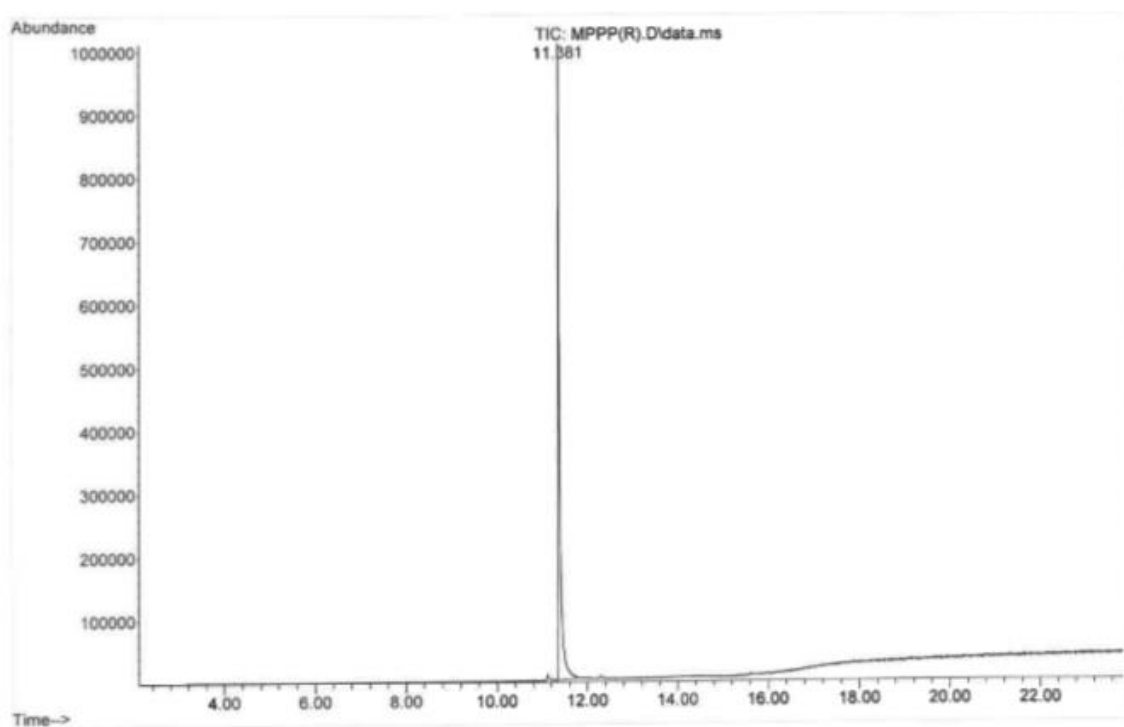
Anexo 7.93 - Cromatograma GC-MS da NEP (15).



Anexo 7.94 - Espectro de massa da NEP (15).



Anexo 7.95 - Cromatograma GC-MS da MPPP (16).



Anexo 7.96 - Espectro de massa da MPPP (16).

